

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND
TERIOLOOGIA ÕPPETOOL

Rita Baumer

**HUNTIDE (*CANIS LUPUS*) JA KOERTE (*CANIS
FAMILIARIS*) HÜBRIDISEERUMINE EUROOPA
PÕHJAOSAS**

Magistritöö

Juhendajad Mc.S. Kaari Susi

Ph.D. Urmas Saarma

TARTU 2018

Infoleht

Hundi (*Canis lupus*) ja koera (*Canis familiaris*) vaheline hübriidiseerumine ehk kahe liigi ristumine ohustab geneetilist terviklikkust, kui hübriidiseerumisele järgneb introgressioon ehk ühe liigi geenide ülekandumine teise liigi genofondi. Käesolevas töös uuriti Euroopa põhjaosa kuuest riigist kogutud 495 hundi ja 99 koera tuumagenoomi mikrosatelliitide markereid (33), et kindlaks teha hübriidide esinemine ning hübriidiseerumise ja introgressiooni määr. Analüüside tulemusena leiti 25 hübriidset isendit kuuest riigist - Soomest, Karjalast, Venemaalt, Lätist, Leedust ja Poolast. Esimese põlvkonna hübriide oli kokku neli, teise põlvkonna hübriide 10 ja tagasiristunud hundipopulatsiooni 11. Hübriidiseerumise määr uuritud piirkonna kohta oli 5 % ja introgressiooni määr 2,4 %.

Hübriidiseerumine huntide ja koerte vahel võib kaasa tuua hundipopulatsiooni kohasuse languse ning ohustada hundi genofondi.

Märksõnad: hunt (*Canis lupus*), koer (*Canis familiaris*), hübriidiseerumine, introgressioon, Põhja-Euroopa.

Abstract

Hybridization between wolves (*Canis lupus*) and dogs (*Canis familiaris*) can threaten the genetic integrity in case of introgression, when genes from one species transfer to the other species gene pool. In this study we investigated genetic markers of 495 wolves from northern Europe and 99 dogs to determine the presence of hybrids and calculate the rates of hybridization and introgression. As a result we found 25 hybrids from all six countries under study: Finland, Karelia, Russia, Latvia, Lithuania and Poland. Four individuals were first generation hybrids, 10 second generation hybrids and 11 were backcrosses to wolves. Rate of hybridization in study area was 5 % and introgression rate 2,4 %.

Hybridization between wolves and dogs may result in loss of adaptation in wolf population and threaten the genetic integrity of the species.

Keywords: wolf (*Canis lupus*), dog (*Canis familiaris*), hybridization, introgression, North-Europe.

Sisukord

Sissejuhatus	7
1. Valdkonna ülevaade	9
1.1. Hundi (<i>Canis lupus</i>) iseloomustus.....	9
1.2. Hundi levik Põhja-Euroopas.....	10
1.3. Hundi (<i>Canis lupus</i>) ja koera (<i>Canis familiaris</i>) lahknemine	15
1.4. Hübridiseerumine	16
2. Materjal ja metoodika.....	24
2.1. Bioloogiline materjal	24
2.2. DNA eraldamine.....	24
2.3. DNA amplifitseerimine	24
2.4. Andmeanalüüs	26
3. Tulemused	28
3.1. Structure analüüsi tulemused.....	28
3.2. Hübriidide tuvastamine.....	28
4. Arutelu	34
Kokkuvõte	40
Summary.....	41
Tänuavaldused.....	42
Kasutatud kirjandus	43
Lisad	52

Sissejuhatus

Hunt (*Canis lupus*) on Euroopa üks suurimatest kiskjatest (Boitani, 2000), kelle levikuala ulatus kunagi üle terve põhjapoolkera (Mech, 1974). 18.-20. saj. vahel on hundi levila kahanenud peamiselt tänu tugevale küttimissurvele ja looduslike elupaikade vähenemisele (Chapron et al, 2014; Hindrikson et al, 2017). Geograafiliselt killustunud populatsioonides võib kaduda huntide geneetiline mitmekesisus, kuna puuduvad liikumiskoridorid populatsioonide vahel, mille kaudu säilitada geenivool (Vila et al, 1999a; Boitani, 2000; Randi, 2011). Kuid hundid on ökoloogiliselt plastilised ning võimelised kohanema antropogeenses keskkonnas, mille tagajärgedeks võib olla kariloomade ründamine ning koertega ristumine liigikaaslasest partneri puudumisel (Chapron et al, 2014; Plumer et al, 2018). Väikesed või oma leviku äärealadel asuvad hundipopulatsioonid on avatud hübriidiseerumisele, eriti inimasustuse lähedal, kus vabalt liikuvate koerte tihedus võib ületada hundi oma (Hindrikson et al, 2012; Leonard et al, 2014). Hübriidiseerumine kui kahe liigi ristumine pole populatsiooni säilimise seisukohast suureks probleemiks - looduslikku hübriidiseerumist peetakse evolutsiooniliseks mehhanismiks, mis pani aluse liigitekkele (Arnold, 1997). Kuid hübriidiseerumisega on seotud introgressioon, mis tähendab, et elujõuliste ja fertiilsete hübriidide ristumisel ühega oma vanemliikidest toimub geneetilise materjali ülekanne (Leonard et al, 2014). Introgressioon võib alakohaste geenide kinnistumisel viia vanemliigi geneetilise terviklikkuse kadumiseni ning isegi populatsiooni või liigi väljasuremiseni (Randi, 2008; 2011; Leonard et al, 2014). Euroopas, kus hundi arvukus on tugevasti vähenenud eelkõige inimtegevuse läbi, ohustab huntide ja koerte segunemine hundi säilimist geneetiliselt ühtse ja elujõulise liigina (Randi, 2011).

Euroopa põhjaosas kannatavad hundid tugeva küttimissurve all ning populatsioonide geograafiline eraldatus võib viia geneetilise varieeruvuse kahanemiseni. Huntide arvukuse vähenemine jahi, liiklusõnnetuste ning sigimisbarjäärade tõttu teeb populatsioonid vastuvõtlikuks hübriidiseerumisele koertega (Balčiauskas, 2008; Andersone et al, 2002; Hindrikson et al, 2012; Jansson et al, 2012; Kaczensky et al, 2012). Eestis ja Lätis on hübriidide olemasolu geneetiliste analüüsidega tõestatud (Andersone et al, 2002; Hindrikson et al, 2012).

Käesoleva magistritöö eesmärgiks on kindlaks teha hübriidide olemasolu Euroopa põhjaosa (Soome, Karjala, Läti, Leedu, Poola ja Venemaa Euroopa-osa) hundipopulatsioonides, analüüsides selleks 33 tuumagenoomi mikrosatelliitlookust. Lisaks määratakse hübriidiseerumise ja introgressiooni määr vaatluse all olevate riikide populatsioonides.

1. Valdkonna ülevaade

1.1. Hundi (*Canis lupus*) iseloomustus

Hunt (*Canis lupus* Linnaeus, 1758; selts *Carnivora*, sgk *Canidae*) on metsikute koerlaste suurim esindaja Euroopas - täiskasvanud emasloom võib kaaluda kuni 55 kg, üldpikkusega kuni 152 cm; isasloom vastavalt kuni 80 kg ja 164 cm. Karvastiku värvus sõltub alamliigist - valgest hallikaslaiguliseni ja pruunist mustani, kuid on harilikult hallisegune (Mech, 1974). Vastavalt levikupaigale võib suurus, värvus ja kaal varieeruda - arktilistel aladel on hundid valge karvastikuga ning kasvult ja kaalult suuremad kui näiteks musta karvastikuga hundid Itaalias (Boitani, 2000; Randi, 2011).

Hundi ökoloogia

Hundid on sotsiaalsed loomad, kelle karja moodustab sisuliselt perekondlik grupp (Mech, 1974). Karja suurus sõltub peamiselt juurdekasvust, noorte hajumisedukusest ja saakloomade tihedusest (Boitani, 2000), kuid on harilikult väikesearvuline, koosnedes 5-8 isendist (paljunev paar, sama aasta kutsikad, üksikud vanemad kutsikad ning vahel ka teistest karjadest immigreerunud isendid). Kari võib kasvada ka väga suureks, nähtud on 36 isendilist karja (Mech, 1974), kuid Euroopas on suured karjad väga haruldased (Boitani, 2000). Karjas valitsevad tugevad emotsionaalsed sidemed, mis fikseeritakse kutsikates viie esimese elukuu jooksul või arenevad kahe üksiku kurameeriva täiskasvanu vahel (Mech, 1974).

Hundid on väga liikuvad ning omavad suuri territooriume (Ciucci et al, 2009). Liigutakse peamiselt öösel ning ränded jaotuvad kolmeks - liikumine kodupiirkonnas, noorte hajumine uutele territooriumitele ning migreerumine saakloomade järel teatud elupaikades (Mech, 1974; Boitani, 2003).

Hunt on oportunistlik generalist, kes toitub kättesaadavatest saakloomadest - eelkõige uluksõralistest, aga ka väiksematest selgroogsetest. Vajadusel võib hunt toituda ka selgrootutest, korjustest ning taimsest toidust (peamiselt juurikad, puuviljad). Toidusedel sõltub elupaigas kättesaadavate saakloomade tihedusest ning varieerub hooajati (Boitani, 2000).

Tippkiskjana mängib hunt olulist rolli ökosüsteemide loomuliku struktuuri hoidmisel ja reguleerib kiskja-saaklooma suhteid, valides populatsioonist sageli nõrku, haigeid või noorloomi (Mech, 1974; Sergio et al, 2008).

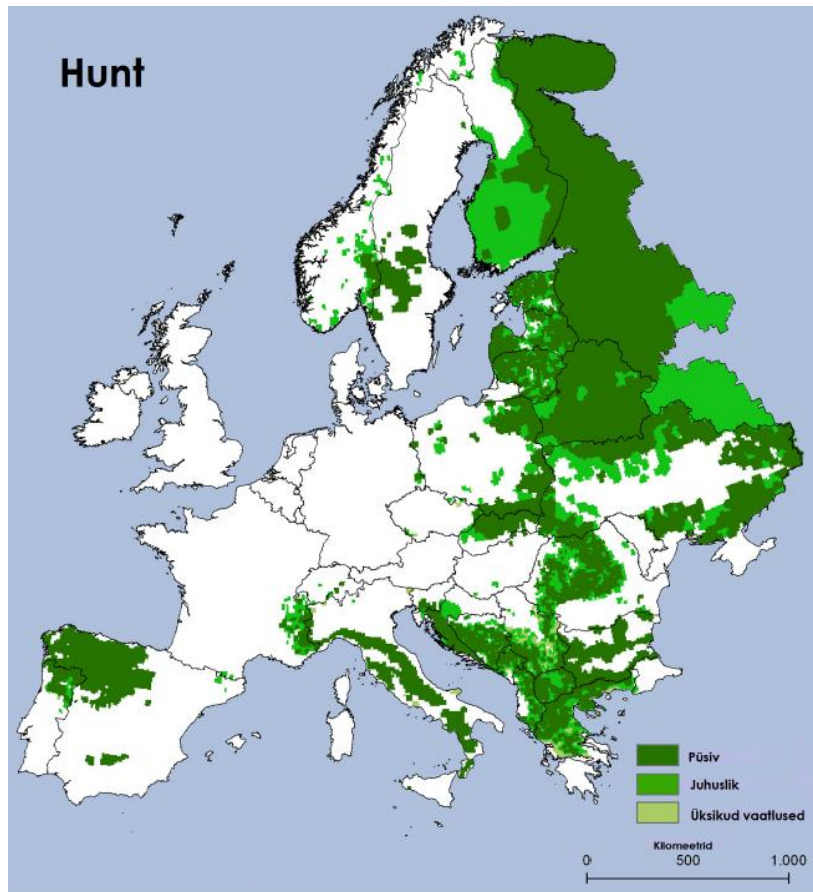
1.2. Hundi levik Põhja-Euroopas

Hunt on kõige laiema levikuga suurkiskja Euroopas, kes oli ajalooliselt levinud kogu põhjapoolkeral (Euroopas, Aasias ning Põhja-Ameerikas) enamikes koosluste- ja maastikutüüpides (Mech, 1974; Vila et al, 1999a; Randi 2011). Hundipopulatsioonid olid suured, toimus karjadevahelist migreerumist ning säilis geenivool (Randi, 1993). 18.-20. saj. vahel on hunti süstemaatiliselt hävitatud (Mech, 1974; Chapron et al, 2014), nähes teda ohuna nii inimesele kui karilooma- ning ulukipopulatsioonidele (Boitani, 2000; Hindrikson et al, 2017). Oma endistest levilatest on hunt enamjaolt kadunud (Vila et al, 1999a; Hindrikson et al, 2017).

Huntide asustustihedus koduterritooriumil on madal (Boitani, 2000), lisaks mõjutab populatsioonide suurust intensiivne metsaraie ning toidubaasi vähenemine (Delibes, 1990), kuna elupaiga kvaliteedi määrab territooriumi suurus, saakloomade tihedus ning inimese häiriv mõju (Boitani, 2000). Allesjäänud hundipopulatsioonid on killustunud ning geograafiliselt ja geneetiliselt tihti eraldatud (Vila et al, 1999a). Väikestes populatsioonides on suur oht sugulusristumiseks, mis viib populatsiooni geneetilise terviklikkuse languseni ning võib lõppeda ka väljasuremisega (Randi, 2011). Euroopas esineb huntidel 6 karüotüüpi, mis viitab tugevale geograafilisele eraldatusele, mida põhjustab allesjäänud levikualade piklik kuju ja liikumiskoridoride puudus levilate vahel (Boitani, 2000). Elupaikade vähenemises mängib rolli ka laienev inimasustus (Ciucci et al, 2009), mis raskendab hundi liikumist teistele territooriumitele (Boitani, 2000).

Euroopas on hunt esindatud 28 riigis (Joonis 1) 12 000 isendiga, kes on hajunud 800 000 km² alale ning moodustavad 10 suuremat populatsiooni - Skandinaavia, Karjala, Balti, Karpaatia, Kesk-Euroopa lausmaa, Dinaari-Balkani, Apenniini poolsaare (Itaalia), Alpi, Loode-Ibeeria ja Sierra Morena. Enamike populatsioonide olukord on hetkel hea tänu viimastel aastakümnetel toimunud taastumisele, kuigi Karjala populatsioon on märgatavas languses ning Sierra Morena (Hispaania) populatsioon väljasuremise äärel (Chapron et al, 2014; Hindrikson et al, 2017).

Hundid on enamustes Euroopa riikides kaitse all ning nende küttimine on rangelt reguleeritud. Hoolimata sellest esineb palju illegaalset jahti, mis teeb hundi kaitsmise keeruliseks (Randi, 2011).



Joonis 1. Hundi (*Canis lupus*) levik Euroopas (Keskkonnaministeerium, 2012).

Levik Soomes ja Karjalas

20. saj. alguseks oli Soome hundipopulatsioonist alles vaid fragmendid ida- ja põhjaosas (Aspi et al, 2006). Tänapäeval leidub hunte hajusalt üle kogu Soome, paljunevad karjad asuvad edela- ja lääneosas (Kaczensky et al, 2012). 2000-ndate aastate jooksul hakkas hundipopulatsioon kasvama ning oma levikut laiendama tänu kaitsemeetmetele ja küttimise reguleerimisele (Kojola et al, 2006), kuid kümme aastat tagasi langesid Soome hundid sügavasse demograafilisse ja geneetilisse madalpunkti (Jansson et al, 2012).

2011-2012. aasta seisuga on Soomes 150-165 hunti (Kaczensky et al, 2012). Soome hundipopulatsioon ei kannata täieliku eraldatuse all - vähest geenisiiret toimub naaberriikide populatsioonidega, mis aitab kaasa populatsiooni kasvule ja geneetilise varieeruvuse suurendamisele (Aspi et al, 2006), kuid karjade kokkupuuteid Venemaa ja Skandinaavia poolsaare populatsioonidega raskendavad suured vahemaad ning rändeteel jäävad põhjapõdrakasvatused, kus hunte kütitakse (Seddon et al, 2006; Kojola et al, 2009).

Karjala hundipopulatsioon oli 20. saj. alguseks hävinemas. 1950-ndatel aastatel algas aeglane taastumine ning 1970-ndateks asustasid hundid jälle kõiki piirkondi Venemaa loodeosas. 1980-ndatel langes arvukus taas ning 2015. aastaks moodustas Karjala populatsiooni umbes 220-245 hunti Soomes ja Venemaal (Hindrikson et al, 2017). Arvukuse kõikumisi mõjutavad ka Soome populatsioonide arvukuste muutused (Aspi et al, 2006; Jansson et al, 2012).

Soome-Venemaa piiril erineb hundi majandamine - Soomes on huntide jaht reguleeritud EU poolt, Karjalas makstakse huntide küttimise eest pearaha. Soome ja Skandinaavia poolsaare riigid teevad aga huntide seiramil koostööd (piiri läheduses liikuva hundid) (Kaczensky et al, 2012). Suurimaks ohuks huntidele Soomes on illegaalne jaht, huntide negatiivne kuvand jahimeeste ja üldsuse silmis, ning geneetilise varieeruvuse langus tänu arvukuse vähenemisele (Jansson et al, 2012).

Levik Eestis

Hundid Eestis kuuluvad koos Läti, Leedu ja Kagu-Poola huntidega Balti populatsiooni, mis on ühenduses Lääne-Venemaa, Põhja-Ukraina ja Valgevene populatsioonidega (Hindrikson et al, 2017). Kuigi Balti populatsioon on ühtne, on eri riikide populatsioonid pisut erineva geneetilise mitmekesisusega. Eesti (ja Läti) hundid on kannatanud tugeva küttimissurve all, läbinud demograafilise pudelikaela 1960-ndatel aastatel, millest taastuti alles 1990-ndatel aastatel. Arvukuse tõusuga tugevnes jälle küttimissurve, mil aastati kütiti välja kolmandik kuni pool populatsioonist mõlemas riigis. Tugev küttimissurve võis olla ka eeldatavate hübriidide ilmunise põhjuseks ning nii Eestis kui Lätis on praeguseks hübriidide esinemine geneetiliste analüüsides tõestatud (Andersone et al, 2002; Hindrikson et al, 2012). Kuigi hunte leidub Eestis üle kogu mandriosa ning suurematel

saartel (Saare- ja Hiiumaa), on nende tihedus madal ning arvukus kõikuv (Plumer et al, 2016). Viimastel andmetel hinnatakse Eesti hundipopulatsiooni suuruseks 200-260 isendit (Hindrikson et al, 2017). Hundipopulatsioon on Eestis jaotunud mitmeks üksteisest erinevaks geneetiliseks grupiks, eeldatavasti suure küttimissurve ja immigrantide tõttu (Hindrikson et al, 2013).

Levik Lätis

Läti hundid kuuluvad ühtsesse Balti populatsiooni ning on levinud üle kogu riigi. Paljunevad karjad on koondunud rohkem lääneossa ning idaosa piiriäärsetesse metsadesse. Levikualad on stabiilselt asustatud alates 1980-ndatest aastatest, kuigi populatsioonid jagunevad kolmeks lääne, kirde ning kaguosade vahel (Andersone & Ozoliņš, 2000).

Läti populatsiooni suuruseks hinnatakse 200-400 isendit (Hindrikson et al, 2017), hetkel on populatsioon stabiilne ja aeglaselt kasvav peale 1990-ndate langusperioodi. Kaitsekorralduse eesmärgiks on hoida Läti hundipopulatsiooni 300-500 isendi juures, et tagada huntide ühtlane jaotus, arvestada keskkonna kandevõimega ning tagada ökosüsteemi loomulik toimimine läbi kiskja-saaklooma suhete (Kaczensky et al, 2012). Hübridiseerumist on täheldatud ning selle ulatust ja tagajärgi tuleks jälgida (Andersone et al, 2002). Ohuteguritena on välja toodud jahimeeste madal tolerants huntide suhtes, populatsiooni jälgimiseks vajaliku tööjõu puudus ja riigi keskossa jääv tühimik levialades (Kaczensky et al, 2012). Suurimaks ohuks populatsioonide elujõulisusele võiks pidada tugevnevat küttimissurvet (Hindrikson et al, 2013).

Levik Leedus

Leedu hundid kuuluvad Balti populatsiooni ning on levinud üle riigi, püsivalt asustades 20 % metsadest (Kaczensky et al, 2012). Arvukus on aastakümnete jooksul tugevasti kõikunud, kasvades II Maailmasõja ajal ning saavutades madalseisu enne ja peale sõda. Populatsioon hakkas uuesti taastuma alles 1980-ndatel aastatel. Arvukus tõusis terves Balti populatsioonis (Eesti, Läti ja Leedu isendid) 2000-ndate aastate keskel, ilmselt tänu laienevale karjakasvatusele, spetsialiseerunud jahimeeste vähesusele ning hundi

ökoloogilisele plastilisusele, mis võimaldab vajadusel asustada erinevaid elupaiku. Sellele perioodile järgnes uus langusperiood, mille põhjusteks võivad olla häirimine ja elupaikade killustumine inimtegevuse läbi (Balčiauskas, 2008).

Populatsiooni suuruseks hinnatakse 2012. aasta seisuga ~ 300 isendit (60-70 karja) (Hindrikson et al, 2017). Alates 2006. aastast on hundi Leedus kaitse all, ning populatsiooni suurusena tahetakse säilitada 250-400 isendit. Leedus ohustab hundipopulatsioone infrastruktuuride areng, levikualade killustumine, hundi ja tema saakloomade salaküttimine ning jahimeeste madal tolerant. Korralike kaitsemeetmete rakendamist takistavad Leeduga piirnevate riikide erinevused hundi kaitsekorralduses, varieerudes täieliku kaitse (Poola) ja laiaulatusliku jahi (Valgevene) vahel (Kaczensky et al, 2012).

Levik Poolas

Poolas asustavad stabiilsed ja arvukad hundipopulatsioonid riigi kaguosa (Balti populatsiooni osa, 270-360 isendit) (Hindrikson et al, 2017) ja Karpaatide mäestikku (Karpaatia populatsioon), kokku usutavasti 129-144 hundikarja (543-687 isendit). Hunte ei leidu Sudeedi mäestikes Poola edelaosas. Poolas on hundid range kaitse all alates 1998. aastast ning kuuluvad aktiivset kaitset vajavate liikide nimekirja (Kaczensky et al, 2012). Huntide ohuteguriteks peetakse elupaikade killustumist ning isolatsiooni tänu infrastruktuuride arengule ja linnastumisele, huntide otsest häirimist nende elupaikades läbi inimtegevuse, haigusi ja inimtegevusest põhjustatud suremust ning konflikte loomakasvatustes (Jedrzejewski et al, 2004, 2005; Popiolek et al, 2007; Huck et al, 2010, 2011). Suurimaks probleemiks on Poola lääneosas alles taastuva hundipopulatsiooni suur suremus salaküttimise ja liiklusõnnetuste läbi (Kaczensky et al, 2012). Poola jagab hundipopulatsioone naaberriikidega, kus hundi majandamismeetmed on erinevad (Leedus ja Slovakkias on hunt jahiuluk; Valgevenes, Venemaal ja Ukrainas toimub hundi aastaringne reguleerimata küttimine; Saksamaal ja Tšehhis on hunt range kaitse all), mis mõjutab hundipopulatsioonide edukust (Novak et al, 2008).

1.3. Hundi (*Canis lupus*) ja koera (*Canis familiaris*) lahknemine

Koerlaste sugukonna liigid kujunesid välja juba 40-50 miljoni aasta eest (Flynn & Galiano, 1982), kuid tänapäevased koerlased lahknesid ühisest eellasest umbes 10 miljonit aastat tagasi (Dragoo & Honeycutt, 1997). Varajased hominiidid alustasid hundi kodustamist arvatavasti juba hilises Pleistotseenis, enne viimase jää-aja maksimumi (Vila et al, 1997). Varajaste hominiididega on seostatud 400 000 aasta vanuseid huntide luuleide (Clutton-Brock, 1995).

Vähestel liikidel on nii keeruline ja mitmekülgne suhe inimesega kui hundil (Mech, 1974). Mechi (1974) järgi taltsutasid hominiidid hundid, püüdes üksikuid noorloomi ning alustates selektiivset paljundamist, kuni aretati kodustatud koer (*Canis familiaris*). 20. saj. teisel poolel asendus eelpool kirjeldatud hüpotees arusaamisega, et hundid hoidsid inimasulate lähedusse kergema saagi lootuses ning nende aeglane sotsialiseerumine inimesega oli vabatahtlik (Clutton-Brock, 1995; Thalmann et al, 2013). Koerad olid ilmselt esimesed tahtlikult kodustatud loomad ning vanimad fossiilsed leiud eeldatavate koerte kohta pärinevad umbes 40 000-30 000 aasta tagusest perioodist (Clutton-Brock, 1995; Vila et al, 1997; Germonpre et al, 2009; Thalmann et al, 2013).

Koera kodustamine

Nii arheoloogiliste leidude kui fülogeneetiliste uuringute põhjal arvatakse tänapäeval, et koerte kodustamine ei saanud toimuda ühest hundipopulatsioonist Aasias (Vila et al, 1997; Thalmann et al, 2013). Koerte fenotüüpide suur varieeruvus (mida esineb ka arheoloogilistel leidudel ehk kodustamise alguses) viitab, et koerad eraldusid huntidest üheaegselt mitmes piirkonnas ning koerte juhuslik ristumine nii omavahel kui huntidega on toimunud tänapäevani. Hüpoteesi poolt räägib ka asjaolu, et hundid eksisteerisid koos inimesega üle terve põhjapoolkera (Vila et al, 1997). Arheoloogilised leiud esimeste eeldatavate koerte kohta Lääne-Euroopast ja Siberist dateeriti 36 000-15 000 aasta vanuseks, samas kui Lähis-Ida ja Ida-Aasia leiud vaid 13 000 aasta vanuseks (Thalmann et al, 2013). Põhja-Ameerikas on leitud 10 000 aasta vanuseid arheoloogilisi leide huntide ja koerte ristanditest (Vila & Wayne, 1999c). Ka mitokondriaalse DNA võrdlemisel Euraasia ja Ameerika tänapäevaste huntide ja eelajalooliste koerlaste vahel ilmnas, et tänapäeval levinud populatsioonid klasterduvad pigem kokku Euroopa liinidega kui Aasia omadega

(Thalmann et al, 2013). Iidsed koerad Ameerikast jagasid ühist esivanemat Euraasia päritolu hundiga ning levisid Ameerikasse ilmselt 10 000-14 000 aastat tagasi koos esimeste koloniseerijatega. Nad omasid suurt geneetilist varieeruvust, mida esines ilmselt juba sisserrännanud koertel (Vila et al, 1999b; Leonard et al, 2002; Wayne et al, 2006).

Fakti, et hundid on koerte ainsaks esivanemaks, toetavad mitokondriaalse DNA uuringud (Vila et al, 1997). Lähedase suguluse tõttu jagavad hundid ja koerad identset kariotüüpi ning võivad omavahel saada fertiilseid järglasi (Vila et al, 1997, 1999c; Wayne et al, 1997, 2006). Tänu inimese valikulisele paljundamisele pole koer enam taltsutatud hunt, vaid uus liik paljude erinevate tõugudega (Clutton-Brock, 1995).

Koeral on kõige varieeruvamad morfoloogilised liigitunnused imetajate seas. Koeratõugude suuruste ja välimuse erinevuste põhjal võiks neid liigitada erinevateks koerlaste perekondadeks, ometi on nad geneetiliselt homogeenised ning võimelised omavahel saama elujõulisi järglasi. Koerad on olnud geneetiliselt isoleeritud vähem kui 15 000 aastat ning selle aja jooksul pole toimunud märgatavat geneetilist eristumist (Wayne, 1986). Hiljutist evolutsioonilist põlvnemist ning tuhandete aastate jooksul toimunud segunemist nii teiste koerte kui huntidega peetaksegi koerte suure varieeruvuse põhjuseks (Clutton-brock, 1995; Vila et al, 1997, 1999b, 1999c).

1.4. Hübridiseerumine

Kuigi huntide ja koerte ajalugu on olnud erinev, toimuvad siiani kogu põhjapoolkeral nende vahel tihedad interaktsioonid - kiskja-saaklooma suhetest kuni kooseksisteerimiseni (Vila & Wayne, 1999c; Lescureux & Linnell, 2014). Evolutsiooniliselt on koerte ja huntide lahknemine toimunud alles hiljuti ning sigimisbarjäärid kahe liigi vahel pole jõudnud välja kujuneda, mis teeb võimalikuks nende omavahelise hübridiseerumise (Vila et al, 1997, 2003). Kuid hübridiseerumine ei toimu ainult koera ja hundi vahel - kõik perekonna *Canis* liigid on lähedased sugulased (Wayne et al, 1997), omavad 78 kromosoomi (Leonard et al, 2014), on võimelised omavahel ristuma ning saama elujõulisi järglasi (Vila & Wayne, 1999c).

Koerte teadlikku ristamist hundiga on inimesed enda huvides kasutanud juba sajandeid, et parandada tõuomadusi ja elujõulisust (Lescureux & Linnell, 2014). Laiaulatuslik oli see

näiteks 17-18. saj., kus seda kasutati eskimo koerte puhul, samuti Indias ja Ungaris. Tänapäeval on olemas huntkoerte tõuge, nt saarloosi, tšehhoslovakkia ja kumingi huntkoerad, kes omavad ka kaugete esivanemate metsikumaid külgi ning on osades riikides keelatud inimese turvalisust silmas pidades (Lescureux & Linnell, 2014).

Looduslik hübriidiseerumine on evolutsioneerumise ja liigitekke üks peamisi mehhanisme (Arnold, 1997). Hübriidiseeruma on võimelised mitmed loomaliigid, Euroopa imetajate seas arvatakse seda ette tulevat 6 % liikidest. Kuigi hübriidid on harvaesinevad, on liikide looduslik hübriidiseerumine tavaline. Populatsiooni sees võivad hübriidid olla haruldased, kuid juba mõned isendid teevad võimalikuks alleelide ülekande liikide vahel. Seega võib isegi harvaesinev hübriidiseerumine indiviidi puhul omada olulisi evolutsioonilisi tagajärgi (Mallet, 2005).

Hübriidide kindlakstegemine

1960-ndate aastateni oli ainus võimalus hübriide kindlaks teha morfoloogiliste tunnuste järgi, sest arvati, et hübriidid on fenotüüpiliselt oma vanemliikide segu. Kuid hübriid võib enamuse oma välimust mõjutavatest geenidest olla pärinud ainult ühelt vanemtaksonilt ning olla seega väljanägemiselt esivanemast eristamatu. Samuti ei saa morfoloogiliste tunnuste järgi määrata hübriidi esimesse põlvkonda, tagasiristunuks või hilisemate generatsioonide hübriidiks (Allendorf et al, 2001). Esivanema polümorfism või mõne geeni mutatsioon võivad määrata hübriidi välimuse (Mallet, 2005). Hübriidide kindlakstegemise teebki keeruliseks nende geneetiline ja morfoloogiline sarnasus (Andersone et al, 2002; Vila et al, 2003; Randi, 2008).

Hübriidiseerumise tuvastamiseks on loodud spetsiaalsed meetodid, mis võimaldavad määrata geenivoolu suunda ja määra (Godinho et al, 2011; Hindrikson et al, 2012). Huntide uurimiseks kasutakse peamiselt kuute tüüpi geneetilisi markereid - autosomaalsed mikrosatelliidid, autosomaalsed ühe nukleotiidi polümorfismid (SNP-d), suur koesobivuskompleks (MHC), mitokondriaalne DNA (mtDNA), Y-kromosoomi mikrosatelliidid ning Y-kromosoomi SNP-d (Hindrikson et al, 2017). Enim kasutusel neist on olnud mitokondriaalne DNA, mis oma kõrge muteerumistaseme ja vähese rekombineerumisega on oluline fülogeograafiliste mustrite uurimisel, kuid pärandub ainult

emaliini pidi ning ei kajasta kõiki populatsioonis toimunud protsesse (De Groot et al, 2016; Hindrikson et al, 2017), samuti ei anna informatsiooni hübriidide introgressioonist või mitmeid põlvkondi tagasi toimunud isase koera ja emase hundi ristumisest (Vila et al, 2003). Mikrosatelliitide puhul on analüüsitavad lookused kõrge polümorfisuse ja heterosügootsusega, paljastades suurema tõenäosusega unikaalseid allele populatsioonides (Wayne et al, 2006). Mikrosatelliitide analüüsid võimaldavad lisaks hübriidide ja introgressiooni tuvastamisele hinnata populatsioonide vahelist erinevust ning määrata isendi sugulust populatsioonis, kindlaks teha aja jooksul populatsioonis toimunud geenivoolu, pudelikaelu ja fragmenteerumist. Kuid varjuküljena ei võimalda mikrosatelliitide kasutamine võrrelda andmestikku erinevate uurimustööde vahel (Smith et al, 1997; De Groot et al, 2016; Hindrikson et al, 2017).

Introgressioon

Hübriidiseerumisega on tihedalt seotud ka introgressioon. Hübriidiseerumist võib vaadelda kui kahe erineva liigi ristumist, mis ei vii alati introgressioonini, isegi kui järeltulijad on elujõulised ja paljunemisvõimelised. Introgressioon on geneetilise materjali ülekanne ühelt liigilt teisele, milleks peab hübriid tagasiristuma ühega vanemliikidest (Lescureux & Linnell, 2014). Hübriidiseerumine ja introgressioon on looduses oluliseks evolutsiooniliste muutuste põhjuseks, kuid võivad kaasa tuua ka liikide väljasuremise läbi kohasuse vähenemise ja geneetilise terviklikkuse kadumise (Randi, 2011; Lescureux & Linnell, 2014; Hindrikson et al, 2017). Introgressiivne hübriidiseerumine kohalike metsikute populatsioonide ning invasiivsete sissetoodud liikide vahel suurendab geneetilist homogeniseerumist, lõhkudes evolutsiooni käigus kinnistunud geneetilise mitmekesisuse (Randi, 2008).

Hübriidiseerumine koerte ja huntide vahel arvatakse olevat siiski haruldane (Vila & Wayne, 1999c). Läbiviidud analüüsides laialt kasutatavad mitokondriaalse DNA markerid, mis päranduvad emaliini pidi, on harva tuvastanud ristumist emase koera ja isase hundi vahel, kuigi see on võimalik (Muñoz-Fuentes et al, 2010; Hindrikson et al, 2012). See viitab, et koera-hundi hübriidiseerumine on kas haruldane, või esineb harva tagasiristumist hundipopulatsiooni, või toimub hübriidiseerumine peamiselt emase hundi ja isase koera vahel (Vila & Wayne, 1999c; Randi 2011). Suurem tõenäosus introgressiooniks ongi isase

koera ja emase hundi ristumisel. Selliseid hübriide on hundipopulatsioonis emaliini päranduvate markerite abil raske tuvastada (Vila & Wayne, 1999c).

Vähem tähelepanu on pööratud genoomse DNA uuringutele, mis võimaldavad kindlaks teha introgressiooni hoolimata soost. Vahemere-äärsetes maades arvatakse hübridiseerumine olevat suureks probleemiks, kuna sealsed hundipopulatsioonid on väikesed, killustunud ning tihedas kokkupuutes koertega (Vila & Wayne, 1999c). Samas näitavad uuringud, et hübridiseerumine emaste koerte ja isaste huntide vahel, millele võiks järgneda koerageenide introgressioon hundipopulatsiooni, on haruldane juhus ning analüüsitud hundipopulatsioonides esineb koerageene harva (Randi et al, 2000), kuigi introgressiooni on siiski tuvastatud näiteks Pürenee poolsaarel (Godinho et al, 2011).

Vähese introgressiooni arvatavaks põhjuseks võib olla koera ja hundi sigimistsükli ebasünkroonsus (Vila & Wayne, 1999c). Hundi populatsioonides sigib karjas ainult alfapaar ning hajuvad karjaliikmed moodustavad sigimispartneriga uue karja (Smith et al, 1997). Koerad ei moodusta karja ega abista emaslooma poegade kasvatamisel, seega on hübriidide suremus looduses suur. Isegi ellujäämise puhul on hübriididel hundikarja integreerumine raske tänu sotsiaalsete sidemete puudumisele. Peale käitumuslike erinevuste on huntidel ja koertel füsioloogiline erinevus paljunemistsükli - emashuntidel esineb aastas üks östrus, millega sünkroonis suureneb isastel testosteroonitase ja seemnerakkude produktsioon, koertel esineb aastas kuni kaks östrust ning isastel on pidevalt kõrgeenenud testosteroonitase. Seetõttu ei lange kokku isase hundi ja emase koera paaritumisvalmidus, kuid isaste koerte pidev valmisolek võimaldab neil emashundi östrusele vastata (Vila & Wayne, 1999c).

Samas etioopia hundi (*Canis simensis*) puhul on käitumuslikud erinevused ja arvukuse vähenemine loonud soodsad alused hübridiseerumisele, mis on oluliselt mõjutanud nende geneetilist struktuuri. Etioopia hundi emasloomadel on lühike innaaeg, mille jooksul emased lahkuvad karjast, et paarituda naaberkarja isastega. Kuna populatsioonid on väikesed ja killustunud, tuleb ette paaritumisi isaste koertega piirkondades, kus hulkuvate koerte arvukus ületab hundi arvukuse. Peale paaritumist naaseb emashunt karja, kus järglaste kasvatamisest võtavad osad ka teised karjaliikmed. Hübriidid kasvavad karjas ning on tihti isegi domineerivad karjaliikmed (Vila & Wayne, 1999c). Etioopia hundi säilimine on tõsisel ohul just väikeste, kuid tugeva struktuuriga populatsioonides, kus geenitriiv on väike ning hübridiseerumine koertega tavaline (Leonard et al, 2014).

Hübriidiseerumise mõjud

Hübriidiseerumine mõjutab metsikuid koerlasi mitmel moel. Suuremad teadmised on negatiivsete tagajärgede kohta - hübriidide madalam kohasus, geneetilise terviklikkuse kadu, haiguste edasikandumine ning sobimatute geenide sattumine looduslikku populatsiooni. Iga populatsiooni ja liigi geneetiline kogum on tuhandete aastate pikkuse valiku ja vastavatele keskkonnatingimustele kohanemise tulemus. Kiire geenitulu võõra keskkonnaga adapteerunud liigilt viib harilikult kohasuse languseni. Hübriidiseerumisele järgnev introgressioon viib populatsiooni genofondi alakohaseid gene, mis hoolimata tugevast negatiivsest valikust võivad juhuslikult saavutada kõrge sageduse ning fikseeruda väikses populatsioonis läbi geenitriivi (Leonard et al, 2014). Vähene geenivool on normaalne, evolutsiooniliselt konstruktiivne protsess, sest alleelid ja genotüübid kaovad ja asenduvad ka ilma geenivooluta. Kuid sage introgressioon erinevate liikide vahel võib viia populatsiooni kohasuse vähenemiseni, ohustades halvimal juhul isegi liikide püsimist (Rhymer & Simberloff, 1996).

Hübriidiseerumine võib põhjustada liikide ja populatsioonide väljasuremist ka ilma introgressioonita (Rhymer & Simberloff, 1996). Näiteks antropogeenne hübriidiseerumine, mille puhul hübriidiseerumist põhjustavad inimtegevuse tagajärjed (Allendorf et al, 2001). Problemaatiliseks võib see muutuda haruldaste liikide seas, kes inimtegevuse tõttu puutuvad kokku teiste, elupaigas levinumate liikidega - kas siis tänu elupaikade muutumisele või killustumisele, või võõrliikide introductseerimise tõttu. Ristumine kohalike ja sissetoodud liikide vahel, kus introgressiooni ei teki, kujutab endast ohtu raisatud sigimispingutuse tõttu (Rhymer & Simberloff, 1996; Allendorf et al, 2001). Väikestes populatsioonides võib isenditel tänu hübriidiseerumisele kaduda võimalus liigisiselt paljuneda ning see vähendab paljunejate koguarvu populatsioonis, mis omakorda vähendab juurdekasvu kiirust ja seega pikaajalist püsimist (Leonard et al, 2014).

Hübriidiseerumine võib põhjustada morfoloogilisi, füüsilisi ja käitumuslikke muutusi nii metsikute koerlaste populatsioonis kui kodukoerte seas (Anderson et al, 2002). Paljud käitumuslikud muutused on geneetiliselt edasikanduvad ning hübriidid arvatakse omavat mõlemale vanemliigile omaseid käitumusmustreid. Üldiselt on hübriidid ettearvamatu käitumisega, taltsutamatud, kartmatud, antisotsiaalsed ning agressiivsed nii inimese kui teiste loomade suhtes (Randi, 2011; Leonard et al, 2014).

Vahel võib hübriidiseerumine ja introgressioon olla ka geneetilise varieeruvuse ning adaptiivsete geenide allikaks (Hedrick, 2013), seda suuremate ühendatud populatsioonide puhul, kus introgreerunud geenide sagedus avaldub osades populatsioonides, aga teistes mitte (Leonard et al, 2014) ning valikuline introgressioon mõjutab genoomis ainult teatud osi. Näiteks melanistlik värvus huntidel ja koiottidel (*Canis latrans*) pärineb arvatavasti koertelt, kelle melanismi põhjustav *K*-alleel introgreerus hundipopulatsiooni tuhandeid aastaid tagasi. Geen saavutas suure sageduse just metsastatud aladel, mistõttu seda peeti kohastumuseks varjevärvusena (Anderson et al, 2009). See ei tähenda, et musta kasukaga hundid oleksid hübriidid või et neil oleks hiljutine hübriidne esivanem (Anderson et al, 2009; Randi, 2011; Leonard et al, 2014). Segunemine koertega aastatuhandeid tagasi on viinud hundi genofondi ka teisi muteerunud allelele, mis põhjustavad näiteks polüdaktüüliat, mida vahel esineb suurekasvulistel koertel ning mis eeldab hundil olevat minevikus segunenud esivanemaid. Segapäritolust annavad tunnistust ka valged küünised, ebatüüpilised värvusmustrid või kehaproportsioonid ning hambumuse anomaaliad huntidel (Ciucci et al, 2003).

Koerlastel esineb suurel hulgal nakkusi ja parasiite, mis sarnase geneetika tõttu koerlaste vahel võivad liigilt liigile üle kanduda, näiteks koera ja hundi kokkupuutel. Hübriididel on ühe adaptatsioonina vastupanu parasiitidele ja haigustele kõrgem. Introgressioon võib põhjustada suures koesobivuskompleksis (MHC) suuremat varieeruvust, mis aitab kergemini vastu panna nakkustele (Lescureux et al, 2014).

Hübriidiseerumist võib esineda rohkem inimasustuse läheduses, kus huntide tihedus on väike ja koeri esineb rohkem (Blanco et al, 1992; Vila & Wayne, 1999c; Andersone et al, 2002; Leonard et al, 2014), kuid ristumist koertega tuleb ette ka juhtudel, kus metsikute koerlaste tihedus on suur (Adams et al, 2003). Probleemiks muutub hübriidiseerumine väikestes või leviku äärealadel asuvates hundipopulatsioonides, samuti ajal, mil karjast hajuvad noorloomad otsivad partnerit. Ristumise riski tõstavad ka inimtegevusest põhjustatud arvukuse vähenemised - suurem suremus jahi ja liikluse läbi, muutused maastikus (Leonard et al, 2014). Väljasuremiseni võib viia olukord, kus hübriididel on vähene kohasus ning hübriidiseerumine on sage, mistõttu populatsiooni kasv jääb alla taastumiskiirte (demograafiline vahetus). Juhul kui hübriidide kohasus pole väga madal ning populatsiooni kasv ületab taastumiskiirte, võib toimuda ühe või mõlema vanemliini asendumine hübriidiliiniga (geneetiline vahetus) (Todesco et al, 2016).

Hübriidiseerumise positiivne mõju

Vähestel juhtudel võib hübriidiseerumine endaga kaasa tuua ka märgatavat kasu. Seda juhtudel, kus geenivahetus taksonite vahel suurendab kohasust või leevendab sugulusristumise lõivu (*inbreeding depression*). Geneetiliseks päästmiseks (*genetic rescue*) võib nimetada olukorda, kus hübriidil on samasugune või suurem kohasus võrrelduna vähemalt ühe vanemliigiga. Samuti on geneetiline päästmine oluline juhtudel, kus geenivool on olnud piiratud pika aja vältel või toimunud vähesel määral, ning valik on piisavalt tugev, et säilitada või tekitada genoomilist või fenotüübilist erinevust vanemliinide vahel. Geneetiline päästmine sõltub hübriidiseerumise kontekstist ja valikule järgnevatest mõjudest (Todesco et al, 2016). Introgressiooni võib seega mõningatel juhtudel vaadelda kui konstruktiivset evolutsioonilist protsessi, mis võimaldab kiiret evolutsioonilist muutust, viies uusi geenikombinatsioone väikestesse ning fragmenteerunud populatsioonidesse (Rhymer & Simberloff, 1996).

Hübriidide levik Euroopa põhjaosas

Hübriidiseerumise ulatust Euroopas uuritakse viimastel aastakümnetel aina põhjalikumalt. Harvem esineb hübriidiseerumist Lääne-Euroopas, avaldatud on andmeid hübriidide esinemisest Itaalias (Verardi et al, 2006), Hispaanias ja Portugalis (Godinho et al, 2011; Torres et al, 2017) ning Kreekas (Stronen et al, 2013).

Suuremas ulatuses toimub hübriidiseerumist Ida-Euroopas tänu huntide ja koerte suuremale tihedusele, mistõttu kokkupuuted metsikute ja kodustatud koerlaste vahel on sagedasemad (Randi et al, 2000). Hübriidide olemasolu on kinnitatud Skandinaavias (Vila & Walker, 2003), Bulgaarias ja Slovakkias (Randi et al, 2000) ja Lääne-Ukrainas (Stronen et al, 2013). Baltimaades on hübriidide esinemine geneetiliste uuringutega kindlaks tehtud Eestis (Hindrikson et al, 2012), Lätis (Andersone et al, 2002; Hindrikson et al, 2012) ja Põhja-Poolas (Stronen et al, 2013). Leedus on analüüsitud hundipopulatsioonide geneetilist struktuuri, kuid hübriidide olemasolu kinnitavaid andmeid avaldatud pole (Baltrunaite et al, 2013).

Lääne-Venemaalt pärit proovide analüüsil on tuvastatud koerast esivanemaid hundi genoomis (Vila et al, 1997), samuti on kirjeldatud emase hundi ja koera paaritumist

Venemaal (Vila et al, 2003), kuid geneetilisi analüüse huntide ja hübriidide uurimiseks pole ilmselt läbi viidud ega rahvusvaheliselt avaldatud. Samuti on Soomest ja Karjalast vaid teated võimalike hübriidide esinemisest, aga geneetilised tulemused ja kirjalikud kinnitused sellest puuduvad.

2. Materjal ja metoodika

2.1. Bioloogiline materjal

Analüüsis kasutatud huntide koeproovid (n=495) pärinevad erinevatelt koostööpartneritelt Soomest (n=73), Karjalast (n=71), Venemaalt (n=49), Lätist (n=110), Leedust (n=70) ja Poolast (n=122). Analüüsis kasutatud koerte vereproovid (n=99) saadi Eesti Maaülikoolilt. Koeproove säilitati 96% piirituses ja -20 °C juures enne analüüsimist.

2.2. DNA eraldamine

Venemaa koeproovidest DNA eraldamise ja mikrosatelliit-analüüsid viis läbi töö autor.

Genoomne DNA eraldati Venemaa proovidest (n=49) ca 50 mg koest vastavalt protokollile, kasutades *High Pure PCR Template Preparation Kit*'i (Roche). Läti, Leedu (Liivi Plumer, osad Läti proovid Kaari Susi), Poola, Soome ja Karjala proovidest (Kaari Susi) ning koera vereproovidest (Kadi Kutser) oli DNA varasemalt eraldatud ning mikrosatelliitide osas analüüsitud.

2.3. DNA amplifitseerimine

Kõigi proovide puhul analüüsiti 35 mikrosatelliitlookust, millest esmalt kasutati 16 mikrosatelliitlookust: FH2010, FH2017, FH2054, FH2079, FH2088, FH2096, vWF, FH2001, AHT130, C466, C20.253, M-CPH2, M-CPH4, M-CPH12, C09.173, CXX22 (Plumer et al, 2016).

Polümeraas ahelreaktsioon (PCR) viidi läbi 10 mikrolitris (µl) ning reaktsioonisegu sisaldas 5,9 µl milli-Q puhtusega vett, 1 µl 10x ammooniumiga puhvrit (Naxo), 0,8 µl MgCl₂-i (25 mM, Naxo; lõppkontsentratsioon 0,2 mM), 0,2 µl dNTP-d (10 mM, Fermentas; lõppkontsentratsioon 0,5 mM), 0,1 µl HSTaq-i (Smart-Taq Hot DNA polümeraas, Sedman HotStart), 0,5 µl vastavat praimerit segu (10 pmol/µl, lõppkontsentratsioon 0,5 µM) ning 1,5 µl DNA-d (eelnevalt puhastatud genoomne DNA, lõppkontsentratsioon 10-50 ng).

PCR-reaktsioonid viidi läbi nii masinal Eppendorf Mastercycler® Pro kui ka Biometra® TProfessional.

PCR reaktsioonide tingimusteks olid:

Programm "huntsed30" (kokku 30 tsüklit)

95°C 20min

94°C 30s

58°C 45s (-0,5°C iga tsükli kohta)

72°C 1min 2 11 (12 tsüklit)

94°C 30s

52°C 45s

72°C 1min 5 17 (18 tsüklit)

72°C 7min

5°C paus

Pärast PCR-i lahjendati saadud reaktsioonisegu 190 µl milli-Q puhta veega (20-kordne lahjendus) ning lookused jagati kolmeks: (1) lookused FH2010, FH2017, FH2054, FH2079, FH2088, FH2096, vWF; (2) lookused FH2001, AHT130, C466, C20.253; (3) lookused M-CPH2, M-CPH4, M-CPH12, C09.173, CXX22. Seejärel lisati igale segule 0,2 µl GeneScan™-500LIZ pikkusmarkerit (Applied Biosystems, Inc. [ABI], Life Technologies). PCR-i produktid saadeti analüüsimiseks Eesti Biokeskuse tuumiklaborisse, kus neid analüüsiti ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer kapillaarsekvenaatoril.

Lisaks 16 mikrosatelliitlookuse analüüsile viidi läbi ka multipleks amplifitseerimisreaktsioon (*Canine Genotypes Panel 1.1; Finnzymes*), kus uuriti 19 lookust: AHTk211, CXX279, REN169O18, INU055, REN54P11, INRA21, AHT137, REN169D01, AHTh260, AHTk253, INU005, INU030, Amelogenin, FH2848, AHT121, FH2054, REN162C04, AHTh171, REN247M23. Ka nende puhul kasutati polümeraas ahelreaktsiooni (PCR), mis viidi läbi 10,15 µl segus. Reaktsioonisegu sisaldas 4,5 µl *Canine Genotype Master Mix*'i, 4,5 µl *Canine Genotype Primer Mix*'i ning 1,15 µl

genoomset hundi DNA-d (lõppkontsentratsioon 20-40 ng DNA-d) (*Finnzymes Canine Genotype Panel 1.1*).

Multipleks reaktsiooni PCR tingimusteks olid:

```
98°C  3min
-----
98°C  15s
60°C  75s
72°C  30s   2       34   (35 tsüklit)
-----
72°C  5min
4°C   paus
```

2.4. Andmeanalüüs

Alleelide pikkuste lugemisel kasutati programmi PEAK SCANNER Software v1.0 (ABI).

Mikrosatelliitide genotüübid binniti võimalike vigade leidmiseks ja korrigeerimiseks, kasutades programmi ALLELOGRAM v2.2 (Morin et al, 2009). Mikrosatellite Toolkit (Park, 2001) on Microsoft Exelil töötav lisandmoodul (Add-ins) programm, millega arvutati keskmine alleelide arv (N_a) ning oodatav (H_e) ja vaadeldav (H_o) heterosügootsus.

STRUCTURE v2.2 (Prichard et al, 2000) programmi abil hinnati indiviidide kuulumist erinevatesse geneetilistesse klastritesse (K) ning programm jagas isendid päritolu järgi kahte gruppi - hundid ja koerad. Valimi seast hübriidide tuvastamiseks kasutati 594 isendit (hundid $n=495$ ja koerad $n=99$). Andmeanalüüsisidesse jäeti alles 35-st lookusest 33, sest lookus FH2054 esines nii 16 mikrosatelliitlookuse kui multipleksi puhul. Teine lookus, mis jäeti analüüsides välja, aitas tuvastada isendite sugu.

Oletatavad hübriidid leiti samuti programmiga STRUCTURE. Analüüs viidi läbi 33 lookuse ja 594 isendiga, kasutades *admixture* mudelit, burn-in oli 50 000 ja MCMC kordusi 500 000. K väärtuseks valiti 1-5 ning korduste arvuks 5. Esmane hübriidikahtlus määrati isenditel, kelle Q väärtus jäi alla 0,98. Selliseid isendeid esines esimeses analüüsis 69, kus andmeanalüüsis ei esitatud isendi päritolu kohta täiendavaid parameetreid.

Selleks, et saada hübriidide kohta täpsemat infot nende kuuluvuse kohta ning mõistmaks, kas indiviid kuulub vanemliini või hübriidikategooriasse, kasutati programmi NewHybrids (Anderson & Thompson, 2002). Analüüs viidi läbi 33 lookuse ning 594 isendiga. Programm jaotas isendid kuue klassi vahel: puhtad hundid, puhtad koerad, esimese põlvkonna hübriidid (F1), teise põlvkonna hübriidid ($F1 \times F1 = F2$), tagasiristumine hundiga ($B \times W$) ning tagasiristumine koeraga ($B \times D$). Seejärel analüüsiti neid taaskord programmiga STRUCTURE, et täpsustada hübriidide kuulumine vastavatesse jaotustesse (hunt, koer, vanem koer ja vanavanem koer). Selleks kasutati parameetrit USEPOPINFO, kus analüüsi sisestati eelteadmised isendite päritolust (hundid ja hübriidid jaotati klastrisse 1 ja koerad klastrisse 2).

3. Tulemused

3.1. Structure analüüsi tulemused

Structure'i programmis kasutati valimit, mis koosnes 594-st isendist (hundid $n=495$ ja koerad $n=99$), analüüsiti 33 lookust. Bayesi analüüs viidi läbi eelteadmisteta (isendeid ei jagatud huntideks ega koerteks), et arvutada välja kõikide analüüsis kasutatud isendite tõenäosus kuuluda huntide või koerte klastrisse. Tulemuste põhjal jagunesid isendid kahte klastrisse: hundid klastrisse 1, keskmise väärtusega $Q_1=0,990$ ja koerad klastrisse 2, keskmise väärtusega $Q_2=0,992$. Tulemustes eraldus 69 isendit, kelle q -väärtus oli madalam ($q < 0,98$), mille tõttu võis kahtlustada, et tegu on hübriidiga (Joonis 2a).

3.2. Hübriidide tuvastamine

Hübriidide leidmiseks viidi läbi NewHybrids'i analüüsid eraldi iga riigi andmetega. Isendite väärtused kirjeldati kuue klassi vahel - puhtad hundid, puhtad koerad, esimese põlvkonna hübriidid ($F1$), teise põlvkonna hübriidid ($F1 \times F1 = F2$), tagasiristumine hundiga ($B \times W$) ja tagasiristumine koeraga ($B \times D$). Analüüsis olid hübriidid eraldi märgistatud (isendid, kelle $q < 0,98$), märgistatud olid ka hundid ja koerad. Tulemustes määrati esialgselt 69 isendist 26 hübriidikahtlusega loomadeks. Riigiti oli hübriidide jaotus: Lätist 5, Leedust 3, Poolast 7, Soomest 2, Karjalast 6 ja Venemaalt 3 isendit (Joonis 3; Lisa 1).

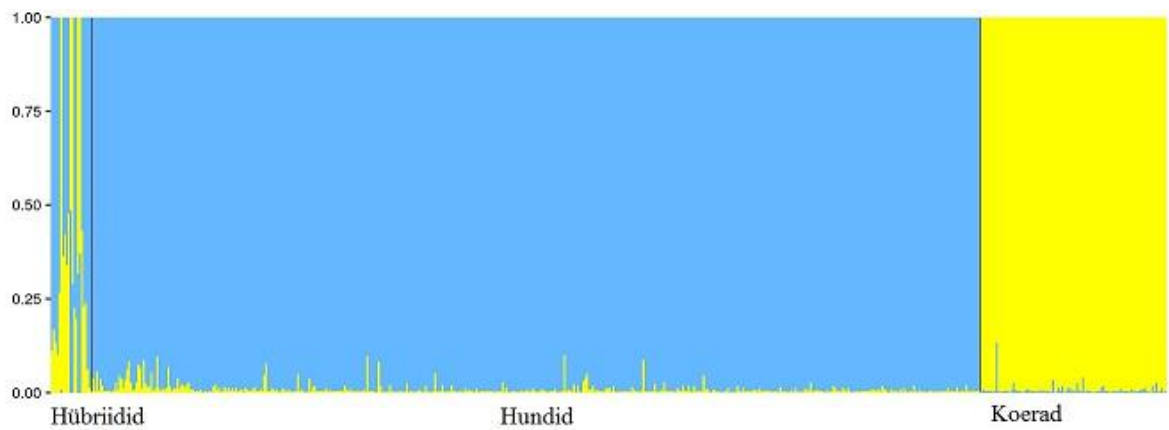
Hübriidiklasside väärtuste täpsustamiseks viidi läbi eelteadmistega analüüsid programmis Structure (USEPOPINFO parameetriga) - isendid jagati huntideks ja koerteks, hübriidid märgiti huntideks. Eelteadmistega Structure arvutas kõikide isendite tõenäosuse kuuluda hundi või koera gruppi, sealhulgas ka tõenäosuse, et isendite vanemad või vanavanemad on suguluses koeraga. Tulemusteks saadi kokku 26 isendit, kes olid hübriidid või kelle vanemad või vanavanemad olid hübriidid või suguluses koeraga (Joonis 2b).

Lätist pärit hübriididest neli kuulusid esimesse põlvkonda ($F1$), üks isend (LAT906) osutus koeraks. Leedu hübriididest kaks kuulusid teise põlvkonda ($F2$), üks isend hundipopulatsiooni tagasiristunuks ($B \times W$). Poola hübriididest viis kuulusid teise põlvkonda, üks isend oli tagasiristunud hundiga. Soome hübriididest üks (SO12705) oli $F2$ põlvkonnast, teine (SO12131) huntidega tagasiristunute hulka kuuluv. Karjalast ja Venemaalt pärit hübriidid olid kõik hiljutised tagasiristumised hundiga.

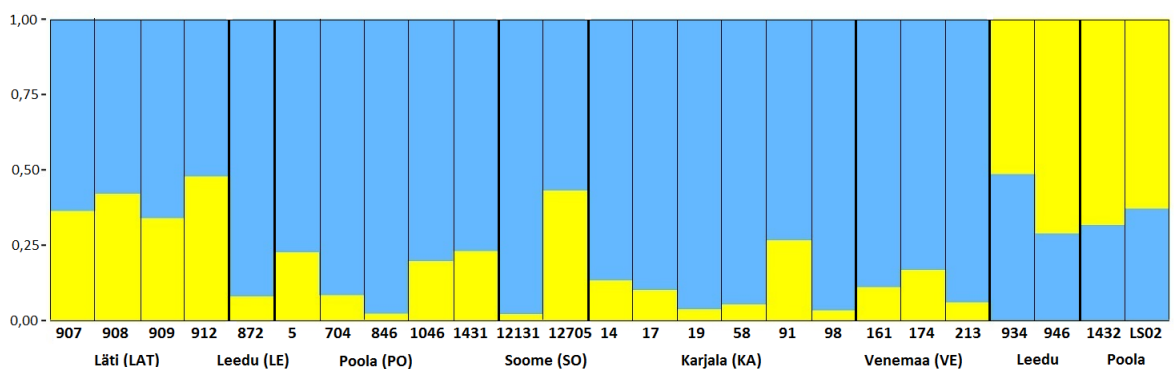
Tuginedes NewHybrids'i analüüsi tulemustele, selgus, et esimesse põlvkonda (F1) kuuluvaid isendeid oli 4 (Lätist pärit hübriidid), teise põlvkonda (F2) kuuluvaid hübriide 9 (Leedust, Poolast ja Soomest) ning hundipopulatsiooni tagasiristunuid (BxW) esines 11 (Soomest, Karjalast ja Venemaalt). Tagasiristunuid koerapopulatsiooni ei leidunud (Tabel 1).

Analüüsis kasutatud huntide ja tuvastatud hübriidide arvu järgi arvutati välja populatsiooni hübriidiseerumise ja introgressiooni määrad iga riigi kohta (Tabel 2). Populatsiooni statistikud koostati analüüsitud huntide ($n=495$) ja koerte ($n=99$) kohta kokkuvõtlikult. Hundipopulatsiooni keskmine oodatav heterosügootsus oli $He=0,77$, vaadeldud heterosügootsus $Ho=0,72$ ning keskmine alleelide arv lookuses oli $Na=10,18$. Koerte puhul oli keskmine oodatav heterosügootsus $He=0,74$, vaadeldud heterosügootsus $Ho=0,59$ ning keskmine alleelide arv lookuses $Na=8,3$. Vaatluse all oli 33 mikrosatelliitlookust, kõik lookused olid polümorfsed. Huntidel oli lookuse kohta 6-20 alleeli, koertel 4-13 (Lisa 2; Lisa 3).

a)



b)



Joonis 2. Huntide ja koerte jagunemine klastritesse (a) ning hübriidide tõenäosus kuuluda huntide või koerte gruppi (b).

a) Structure programm jagas isendid (n=594) kolme gruppi (eraldatud joontega): eeldatavad hübriidid (n=69), hundid (n=426) ja koerad (n=99). Andmed põhinevad Structure analüüsi põhjal eelteadmisteta populatsioonist (Usepopinfo=0; K=2). b) Tuvastatud 25 hübriidi tõenäosus kuuluda gruppi hundid (märgitud sinise värvusega) või koerad (märgitud kollase värvusega). Tabelist on välja jäetud isend LAT906, kes osutus koeraks. Jaotus riikide järgi (eraldatud tumedama joonega). (Lühendid: LAT - Läti, LE - Leedu, PO - Poola, SO - Soome, KA - Karjala ja VE - Venemaa hübriidid).



Joonis 3. Hü브리idide küttimiskohad. Rohelise värvusega tähistatud esimese põlvkonna (F1), sinise värvusega teise põlvkonna (F2) ja punase värvusega hundipopulatsiooni tagasiristunud (BxW) isendid.

Tabel 1. Structure'i ja NewHybrids'i väärtused tuvastatud hübriidide kohta.

Structure arvutused viidi läbi 594 isendi ja 33 lookusega, millest eraldus esialgu 26 hübriidi. Jaotus Structure'i alusel kajastab tulemusi eelteadmisteta populatsiooni põhjal, Structure Usepopinfo alusel - eelteadmistega populatsiooni põhjal (hundid ja hübriidid klaster 1, koerad klaster 2) ja NewHybrids'i tulemused - hübriidiklasside väärtused. Tumedas trükkis väärtused, mille alusel otsustati isendi kuuluvus vastavasse hübriidiklassi.

ID	Structure alusel		Structure USEPOPINFO alusel				NewHybrids alusel					
	Hunt	Koer	Hunt	Koer	Vanem koer	Vanav koer	Hunt	Koer	F1	F2	BxW	BxD
Hunt	0,964	0,036	0,939	0	0	0,061	0,991	0	0	0,001	0,007	0
Koer	0,019	0,981	0	0,980	0	0,002	0	0,996	0	0,001	0	0,002
LAT906	0,007	0,993	0	0,994	0	0,006	0	0,999	0	0	0	0
LAT907	0,636	0,364	0	0	0,548	0,452	0	0	0,975	0,017	0,008	0
LAT908	0,579	0,421	0	0	0,587	0,413	0	0	0,958	0,036	0,005	0
LAT909	0,661	0,339	0,029	0	0,206	0,765	0	0	0,918	0,063	0,018	0
LAT912	0,522	0,478	0	0	0,527	0,473	0	0	0,903	0,084	0,011	0
LE872	0,920	0,080	0,895	0	0	0,105	0,445	0	0	0,415	0,140	0
LE934	0,486	0,514	0	0	0,355	0,645	0	0	0,001	0,987	0,008	0,004
LE946	0,289	0,711	0	0,224	0,732	0,044	0	0,038	0	0,863	0	0,099
PO5	0,744	0,226	0,151	0	0,026	0,823	0	0	0,007	0,715	0,278	0
PO704	0,916	0,084	0,894	0	0	0,106	0	0	0	0,886	0,114	0
PO846	0,987	0,023	0,957	0	0	0,043	0,625	0	0	0,101	0,273	0
PO1046	0,803	0,197	0,272	0,005	0	0,722	0,001	0	0	0,997	0,002	0
PO1431	0,770	0,230	0,640	0	0	0,360	0,004	0	0	0,985	0,011	0
PO1432	0,317	0,683	0	0,028	0,644	0,328	0	0	0	0,994	0	0,005
POLS02	0,371	0,629	0	0	0,996	0,004	0	0	0,038	0,921	0	0,041
SO12131	0,979	0,021	0,992	0	0	0,008	0,147	0	0	0,553	0,230	0
SO12705	0,569	0,431	0,128	0	0,004	0,868	0	0	0	0,898	0,120	0
KA14	0,866	0,134	0,818	0	0,002	0,180	0,297	0	0,001	0,002	0,699	0
KA17	0,899	0,101	0,772	0	0	0,228	0	0	0	0,003	0,967	0
KA19	0,963	0,037	0,936	0	0	0,064	0,058	0	0	0,001	0,941	0
KA58	0,947	0,053	0,887	0	0	0,113	0,184	0	0	0,001	0,816	0
KA91	0,733	0,267	0,086	0	0,367	0,547	0	0	0,142	0,019	0,838	0
KA98	0,967	0,033	0,972	0	0	0,028	0,021	0	0	0,017	0,962	0
VE161	0,889	0,111	0,679	0	0,012	0,310	0,407	0	0,002	0,018	0,573	0
VE174	0,832	0,168	0,458	0	0,001	0,541	0,117	0	0	0,007	0,876	0
VE213	0,941	0,060	0,875	0	0	0,124	0,004	0	0	0,001	0,993	0

Tabel 2. Hübridiseerumise ja introgressiooni määr riikide kaupa

Riik	Analüüsitud huntide arv	Hübriidide arv	Tagasiristunute arv	Hübridiseerumise määr %	Introgressiooni määr %
Läti	110	4	0	3,6	0
Leedu	70	3	0	4,3	0
Poola	122	7	2	5,7	1,6
Soome	73	2	1	2,7	1,4
Karjala	71	6	6	8,5	8,5
Venemaa	49	3	3	6,1	6,1

4. Arutelu

Euroopa põhjaosas on hübriidide olemasolu hundipopulatsioonides geneetiliste analüüsidega kindlaks tehtud Eestis (Hindrikson et al, 2012) ja Lätis (Andersone et al, 2002; Hindrikson et al, 2012). Poolast on teada vaid hübriidikahtlusega isendite olemasolu, aga põhjalikke uurimusi hübriidiseerumisest ei ole avaldatud (Stronen et al, 2013). Teaduslikud andmed Soome, Karjala ja Venemaa hübriididest puuduvad ning viimaste andmete järgi pole ka Leedus hübriide tuvastatud hoolimata hundipopulatsioonide geneetilise struktuuri uurimisest (Baltrunaite et al, 2013).

Käesolevas töös vaadeldud riikides on hundipopulatsioonid jaotunud eristuvateks geneetilisteks gruppideks, geenivool on vähenenud ning arvukus langenud tugeva küttimissurve tõttu. Põhjapoolsemates Euroopa riikides jääb intensiivse metsamajandamise tõttu looduslikke suuri metsamassiive vähemaks ning huntide kaitsekorraldus on nõrk (Chapron et al, 2014). See loob eeldused huntide hübriidiseerumiseks koertega ning võimaldab koerageenide introgressiooni hundipopulatsiooni.

Valimina kasutati 495 hundi proove kuuest riigist. Esialgsete Structure'i analüüside põhjal eristus 69 hübriidikahtlusega isendit. Täpsema tulemuse saamiseks viidi edasised analüüsid hübriidide kinnitamiseks läbi iga riigi kohta eraldi, arvestades, et valimina kasutatud isendite arv varieerub riigiti ning populatsioonides esinevad alleelid võivad erineda. NewHybrids'i analüüs, mis määrab hübriidide päritolu täpsemalt kui Structure'i analüüsid, ning mille tulemustele antud järeldustes toetuti, kinnitas hübriidide olemasolu igas uurimise all olnud riigis. Riikide peale kokku võis hübriidideks lugeda 25 isendit (Joonis 2b; Joonis 3).

Läti hübriididest ($n=5$) osutus üks isend (LAT906) puhtaks koeraks. Ülejäänud neli Läti hübriidi kuulusid kõik esimesse põlvkonda, kelle vanavanemad ja üks vanematest olid koera päritolu. Kaks isendit (LAT907 ja LAT908) kütiti samast kohast ning samal ajal, arvatavasti oli tegemist ühe pesakonna liikmetega. Varasemates töodes Läti hübriididest on leitud ka teise põlvkonna hübriidikahtlusega isendeid, kuid veenvalt ei suudetud F2 põlvkonda tuvastada (Hindrikson et al, 2012). Andersone jt. (2002) kirjeldasid hübriidse pesakonna esinemisest Lätis, kelle emaks osutus samuti hübriid.

Antud töö tulemuste põhjal on võimalik järeldada, et Lätis võib tagasiristunute puudumine olla põhjustatud hübriidide alakohasusest, mis võis lõppeda hukkumisega noores eas, sigimisvõimalust saamata. Hübriidsete kutsikate suremus on suur, kuna nende eest hoolitseb ainult ema, kes üksi ei suuda neile pakkuda piisavalt kaitset ja toitu. Põhjuseks võib olla ka hübriidide erinev välimus või käitumine, mistõttu huntidega paljunemine on takistatud. Välistamata ei saa jätta võimalust, et hübriidid võivad tagasiristuda hoopis hulkuvate koertega, kes on Lätis arvukad, aga kuna Läti kohalikku koerapopulatsiooni analüüsidesse ei kaasatud, puuduvad sellest kindlad andmed. Hübriidid, kes pole moodustanud tugevaid sidemeid huntidega nagu kutsikad hundikarjas kasvades, ei oska käitumuslikult hundikarja sobitada ega paaritumisvõimalust saada. Arvestada tuleb, et kuna teadaolevalt on Lätis lubatud küttida hulkuvaid koeri, võisid hübriidid hukka saada enne, kui neil avanes võimalus hundikarjaga liituda.

Leedu hübriidid ($n=3$) kuulusid tulemuste järgi teise põlvkonda, kelle vanemliinis olid koerad esinenud veel suhteliselt hiljuti. Teise põlvkonna hübriidideks osutusid ka Poola hübriidid ($n=7$), kuigi ühel isendil (PO846) oli hoolimata tagasiristumisest hundipopulatsiooni tugevalt esindatud hundigeenid. Samasugune olukord oli ka ühe Leedu hübriidiga (LE872), kellel teise põlvkonna arvuline väärtus ($F_2=0,415$) oli madalam tänu hundigeenide tugevusele genoomis.

Leedu ja Poola hübriidid kuulusid suures enamuses teise põlvkonda, esines ka üks huntidega tagasiristunud isend Poolast. F_2 hübriidide suur osakaal võib tähendada, et valimisse ei sattunud F_1 hübriide või ei suutnud NewHybrids'i programm korralikult hübriide klassifitseerida. Vaadates tulemusi, mis on toodud Tabelis 1, näeme, et Structure'i alusel on suur osa Poola F_2 hübriididest liigitunud hundiks, kuigi esindatud on ka koerageenid. Kahtlemata on nad hübriidid, aga kõikide Poola hübriidsete isendite kuulumine teise põlvkonda, arvestades, et F_2 põlvkond tähendab NewHybrids'i programmi järgi kahe esimese põlvkonna hübriidi järeltulijat, on kaheldav. Ilmselt on tegemist mitmeid põlvkondi tagasi toimunud hübriidiseerumisega. Vaadates kogu tabeli tulemusi Leedu ja Poola huntide kohta, kus väärtused eri isenditel kõiguvad hundi ja koera klasside vahel, tundub see kõige tõenäolisem seletus. On ka võimalik, et NewHybrids määras paljud isendid F_2 põlvkonda tänu koerte piiratud valimile.

Soomest eraldus analüüsidest vaid kaks hübriidi, kellest üks kuulus selgelt teise põlvkonda, kuid Soome põhjaosast, Savukoski vallast kütitud isendi (SO12131) väärtused

NewHybridsi põhjal viitasid kunagisele tagasiristumisele hundipopulatsioonile. Arvestades, et isend SO12131 kütiti Põhja-Soomest põhjapõdrakasvatuse aladelt, võis tegu olla üksiku sisserändajaga Venemaalt või Karjalast. Ilmselt oli isend pärit populatsioonist, kus geenivool on olnud piiratud ning olude sunnil on kunagi toimunud ristumine koeraga.

Karjala hübriidid (n=6) olid analüüside põhjal kõik hiljuti tagasiristunud hundipopulatsioonile, mis on seletatav hulkuvate koerte suure osakaaluga piirkonnas ning huntide ja koerte tiheda kokkupuutega. Hetkel koosneb Vene-Karjala hundipopulatsioon paarisajast isendist, kes on jagunenud Soome ja Venemaa vahel, ning kelle arvukust mõjutab tugevasti Soome huntide arvukuse kõikumised ning geenivool Venemaalt (Aspi et al, 2006; Jansson et al, 2012).

Venemaa hübriidid (n=3) klassifitseerusid samuti hundiga tagasiristunute gruppi ning ilmselt oli tagasiristumine toimunud hiljuti. Töö autorile teadaolevalt on Venemaa hundipopulatsioonidest ja hübriidide olemasolust vähe uusi andmeid, oletatavasti toimub seal inimasustuse lähedal hübriidiseerumist, samas kui suurtes metsamassiivides võiksid hundipopulatsioonid olla geneetiliselt puhtad ning arvukad. Kindlaid andmeid hübriidide arvukuse kohta Venemaal on pea võimatu leida, isegi huntide tiheduse ja leviku kohta puuduvad konkreetsed andmed. Hübriidiseerumisest Venemaal levib vaid pealtnägijate kirjeldusi (Vila et al, 2003), otseselt hübriidide uurimisega rahvusvahelisel tasandil seal ei tegeleta.

Hübriidide kütimiskohad jagunevad vastavalt hundikarjade levikualadele, mitte pole koondunud ühte piirkonda, näiteks kõrgema hübriidiseerumisriskiga populatsiooni, mis asuks äärealadel või eralduses. Kuigi mõned hübriidid on kütitud inimasustuse lähedalt, mistõttu ilmseks hübriidide esinemise põhjuseks võib pidada hulkuvaid koeri.

Üheks antud töö eesmärgiks oli leida ka hübriidiseerumise ja introgressiooni määr (Tabel 2). Kasutatud valimid erinesid arvuliselt riikide lõikes, sõltuvalt sellest ka hübriidiseerumise ja tagasiristumise määrad, kuid need annavad siiski aimu hübriidide esinemisest mitme Euroopa riigi hundipopulatsioonides.

Lätist pärit valimis (n=110) oli neli F1 hübriidi ning hübriidiseerumise määraks 3,6 %. Ühtegi tagasiristumist Läti hübriidide puhul ei leitud, seega introgressiooni antud andmete põhjal ei esinenud. Andersone jt. (2002) leidsid oma uurimuses 31 hundi seast seitse

hübriidi (emane ja tema kuus järeltulijat), mis andis vastavalt hübriidiseerumise määraks 22,6 %. Hindriksoni jt. (2012) töö põhjal oli Lätis hübriidiseerumise määr 5,4 % (valim $n=37$, millest hübriide $n=2$).

Leedust oli isendeid 70 ning hübriide neist kolm, kõik NewHybrids'i andmete põhjal teise põlvkonna hübriidid. Hübriidiseerumise määr nende tulemuste järgi on 4,3 % ning tagasiristumisi ei esinenud.

Poola valim koosnes 122 isendist, kellest eristus seitse teise põlvkonda kuuluvat hübriidi, kahe isendi puhul olid märgid kunagisest tagasiristumisest hundipopulatsiooni. Hübriidiseerumise määraks seega 5,7 % ning introgressioon 1,6 %.

Et saada ülevaadet Balti hundipopulatsiooni (Eesti, Läti, Leedu ja Kirde-Poola hundid) hübriidiseerumise ja introgressiooni määra üldiselt, tuleb peale Läti, Leedu ja Kirde-Poola valimite analüüsi kaasata ka Eesti populatsioon. Hindrikson jt. (2012) leidsid oma töös, kus analüüsiti Eesti ja Läti hübriide, et Eesti uuritavas valimis ($n=37$) esines kuus arvatavat teise põlvkonna hübriidi (töös kasutati vaid 11 mikrosatelliitlookust, mistõttu ei saanud kindlalt määrata, kas hübriidid kuulusid F2 või F3 põlvkonda). Selliste tulemuste põhjal oleks introgressiooni määraks Eestis 16,2 %. Eesti ja Läti peale kokku ($n=74$, hübriide 8) oleks määr 10,8 %. Antud töös kasutati Kadi Kutseri magistritöö (2017) andmeid Eesti hundipopulatsioonist ja leitud hübriididest, mille järgi oli Eesti valimiks 202 hunti, kellest hübriidset päritolu 11 isendit (enamik F1, aga leidus ka introgressiooni). Koos käesoleva töö tulemustega, kus valimiks oli Lätist 110, Leedust 70 ja Kirde-Poolast 44 hunti, teeb see nelja riigi peale kokku 426 hunti, kellest omakorda kokku 23 hübriidi (Eestist 11, Lätist 4, Leedust 3 ja Kirde-Poolast 5 hübriidi). Tulemusena oleks Balti populatsiooni hübriidiseerumise määraks 5,4 %. Hundipopulatsiooni tagasiristunuid oli vaid Eesti ja Poola hübriidide seas, vastavalt kolm ja kaks isendit, ning seega introgressioonimääraks oleks 1,2 %. Balti populatsioon vajaks tulevikus edasist uurimist, soovitatavalt kasutades võrdlusena kohalikke koeri, et tuvastada ka võimalikku introgressiooni koerapopulatsiooni.

Töös kasutatud valimid olid enamjaolt juhuslikud (Eesti ja Läti proovides esines eelneva hübriidikahtlusega isendeid) ja tulemused viitavad, et Balti populatsioon on tänu huntide killustunud elupaikadele ning vähenenud arvukusele avatud hübriidiseerumiseks. Introgressiooni määr ei ole väga kõrge ilmselt asjaolu tõttu, et hübriidsetel kutsikatel on väga raske saada hundikarjas omaks võetud ning tõusta paljunemisõigusega isenditeks.

Ainuke võimalus tagasiristumiseks on ilmselt sama, mis nende endi vanematel - otsida paarilist väljaspool karja. Harilikult toimub hübriidiseerumine peamiselt emase hundi ja isase koera vahel, ning ka koerageenide sattumine hundipopulatsiooni toimub kergemini emashundi hübriidsete järeltulijate kaudu (Vila & Wayne, 1999c; Randi et al, 2000). Kui arvesse võtta koerte ja huntide sigimistsükli ebasümmeetrilisust (Vila & Wayne, 1999c), on tõenäoline, et emaste koerte ja isaste huntide vahel toimub hübriidiseerumist harva, kuid see pole võimatu, nagu selgus Hindriksoni jt. (2012) tööst kahe Läti hübriidi puhul.

Soome 73 hundist vaid kaks olid hübriidset päritolu, ning üks neist ka kunagi tagasiristunud, hübriidiseerumise määr seega 2,7 % ning introgressioon 1,4 %. Hübriidide väikest arvu seletab asjaolu, et Soomes on hundid kaitse all, nende arvukust reguleeritakse ning kokkupuuted koerte ja huntide vahel harvemad hulkuvate koerte vähesuse tõttu.

Karjala huntide (n=71) seast eristus kuus hübriidi, kes kõik hiljuti hundipopulatsiooni tagasiristunud. Seetõttu on nii hübriidiseerumise kui introgressiooni määr 8,5 %. Nagu eelnevalt mainitud, on selliste tulemuste põhjuseks ilmselt hulkuvate koerte suur osakaal ning populatsiooni madal arvukus. Samuti nagu ka Venemaal, on Karjala hundipopulatsioonide käekäigu ja hübriidide olemasolu kohta keeruline leida avaldatud andmeid.

Venemaa valim oli kõige väiksem, vaid 49 isendit, kust eraldus kolm hübriidi, kes olid kõik hiljuti hundipopulatsiooni tagasiristunud. Hübriidiseerumise ning introgressiooni määr on 6,1 %, mis kindlasti ei peegelda tegelikku olukorda, kuigi andmed, mis seda kinnitaksid või ümber lükkaksid, puuduvad.

Kõikide käesolevas töös uuritud riikide põhjal on hübriidiseerumise määraks 5 % ning introgressiooni määraks 2,4 % (hunte n=495, hübriide n=25, tagasiristunuid n=12). Seega toimub hübriidiseerumist sagedamini kui arvati, kuid selle määr pole väga kõrge. Tagasiristumine oli kõikide isendite puhul vaid hundipopulatsiooni, hundigeenide introgressiooni koerapopulatsiooni analüüsides välja ei tulnud, mis on ka ootuspärane, kuna koerte valim oli suhteliselt väike ja valimist puudusid kohalikud koerad. Tagasiristumiste olemasolu näitab, et introgressioon ei ole nii harvaesinev, kui seni arvati (Vila & Wayne, 1999c), kuid hundipopulatsiooni sattuvate koerageenide osakaal on siiski väike.

Analüüsid viidi läbi 33 mikrosatelliitlookusega, mis on iseenesest piisav arv hübriidide kindlakstegemiseks ning päritolu väljaselgitamiseks. Tulevikus võiks analüüsi kaasata ka mitokondriaalse DNA ja Y-kromosoomi mikrosatelliitide analüüsid, ning suurendama tuumagenoomi mikrosatelliitlookuste arvu, et määrata hübriidide vanemliigid, täpsem põlvnenemine ning hübriidiseerumisklassid.

Keskkonna antropogeniseerumisega kaasneb paratamatult ka loodusliku tasakaalu muutumine. Seetõttu peaks tulevastes uurimustes hõlmama tervet Euroopat, kaasama võimalikult suure geograafilise ala, suurendama analüüsitavate hundiproovide arvu ja kasutama võimalusel kohalikke koerapopulatsioone võrdlusena. Koerlaste perekonnas (*Canis*) on liigid omavahel võimelised ristuma ning koerageenide introgressioon hundipopulatsiooni võib kaasa tuua liigi geneetilise vaesumise, haiguste leviku ja vähenenud kohasuse. Hübriidide kohasus on harilikult madalam, kuid hübriididel võivad esineda mõlema vanemliigi omadused - agressiivsus ning julgus nii inimese kui koduloomade suhtes, parem vastupanu nii koerte kui huntide nakkustele, suuremad ellujäämisvõimalused tänu varieeruvatele toitumisviisidele (Randi, 2011; Leonard et al, 2014; Lescureux & Linnell, 2014). Andersone jt. (2002) kirjeldas, kuidas emane hübriid otsis pesakonnale toitu prügilatest, kuigi tema koduterritooriumil esinesid mitmed hundi saakloomaliigid. Introgressioon võib vahel lisada vajalikku geneetilist varieeruvust ning kohaseid geene suurematesse populatsioonidesse (Hedrick, 2013; Leonard et al, 2014), mis üha enam inimese poolt mõjutatud keskkonnas võivad tulevikus saada oluliseks, et muutunud keskkonnatingimustes paremini hakkama saada. See võib viia aga hundi genofondi sedavõrd suurte muutusteni, et tegemist võib siis olla juba tänapäeva hundist paljuski väga erineva uue, hübriidse liigiga.

Kokkuvõte

20. saj. jooksul vähenes hundi arvukus Euroopas küttimissurve ja killustunud levilate tõttu. Elupaikade kadumise tõttu adapteerus hunt uue keskkonnaga, jahtides kariloomi, elades inimasulate läheduses ning ristudes koeraga sobiva sigimispartneri puudumisel. Kahe liigi ristumise ehk hübriidiseerumise määra looduses tõstavad inimtegevusest põhjustatud muutused, mis võivad viia liikide väljasuremiseni nii liikide asendumise kui segunemise kaudu. Kuigi vahel võib hübriidiseerumine päästa populatsiooni sugulusristumisest, toob koerageenide levimine hundipopulatsioonis harilikult kaasa kohasuse languse ja geneetilise terviklikkuse kadumise, mis ohustab hundi säilimist geenipuhta liigina.

Euroopa põhjapoolsetes riikides hakkab hundi arvukus tasapisi tõusma. Võrreldes Lõuna-Euroopaga pole inimasustuse laienemine veel hävitanud metsamassiive, kuigi territooriumite ebaühtlase suuruse ja levikukoridoride puudumise tõttu on hundikarjad väikesed. Geenivool ümbritsevate riikidega toimub, kuigi on raskendatud ning hulkuvate koerte osakaal on vähenemas.

Käesolevas töös analüüsiti 495 hunti ja 99 koera, et kindlaks teha hübriidide olemasolu ning hübriidiseerumise ja introgressiooni määr. Uuritud kuuest riigist (Soome, Karjala, Venemaa, Läti, Leedu ja Poola) leiti kokku 25 hübriidi, kellest valdav enamus oli tagasiristunud hundipopulatsiooni (11 isendit). Teise põlvkonna hübriide tuli analüüsides välja 10 ning esimese põlvkonna hübriide neli. Hübriidiseerumise määraks kõikide riikide isendeid arvesse võttes tuli 5 % ning introgressiooni määraks 2,4 %. Enamustes riikides oli introgressioon vähene või olematu, ainult Venemaal ja Karjala populatsioonis domineeris tagasiristumine, mis on seletatav hundi nõrga kaitsemajandamise ning hulkuvate koerte suure tihedusega.

Kokkuvõtlikult võib öelda, et hübriidiseerumist toimub sagedamini kui võiks arvata, kuid hübriidiseerumise määr pole õnneks suur. Kuigi introgressiooniga satuvad koerageenid hundipopulatsiooni, on nende osakaal väike ning hunti väljasuremine ei ohusta, kuid hübriidiseerumise ja introgressiooni uurimisega üle Euroopa tuleks kindlasti tegeleda senisest põhjalikumalt.

Summary

"Hybridization between wolves (*Canis lupus*) and dogs (*Canis familiaris*) in northern Europe"

Over the 20th century, severe hunting pressure and fragmented landscape decreased wolves abundance. Loss of habitat has led wolves to adapt with a new environment, hunting cattle, living next to human settlements and in case of not finding suitable mates, breeding with dogs. Changes in environment by human actions can rise the rate of hybridization, which can lead to extinction of species by replacement or mixture of species. Although sometimes hybridization can save species from inbreeding depression, spreading of dog genes into wolf population is more likely to result in loss of fitness and genetic integrity, and threaten the survival of wolf as a pure species.

Wolves abundance in northern parts of Europe is beginning to rise. Compared to South-Europe there is still natural forestry in northern parts of Europe, although wolfpacks are small due to uneven territories and lack of distribution corridors. There is still some geneflow with surrounding countries and abundance of feral dogs is declining.

In this study we analysed 495 wolves and 99 dogs to determine the presence of hybrids and to measure the rate of hybridization and introgression. From the six countries in this study (Finland, Karelia, Russia, Latvia, Lithuania and Poland) 25 hybrids in total were found, most of them were backcrosses with wolves (11 individuals). Analyses also showed 10 individuals belonging to the second generation and 4 to the first generation. Rate of hybridization in total was 5 % and introgression rate 2,4 %. In most of the countries introgression was low or non-existent, only in Russia and in the Karelia population the crossbreeding with wolf was high. That can be explained with weak wolf protection management and high abundance of feral dogs.

In summary, hybridization occurs more then assumed so far, but luckily the rate of hybridization is not high. Although introgression spreads dog genes into wolf population, their occurrence is low and wolf is not yet threatened by extinction, but studies of hybridization and introgression across Europe should be carried out more thoroughly.

Tänuavaldused

Soovin südamest tänada oma juhendajaid Kaari Susi ja Urmas Saarmat, kelle kannatlikkus ja abi olid asendamatud käesoleva magistritöö valmimisel.

Samuti tahaksin tänada erinevaid töörühma koostööpartnereid, kelle saadetud materjalid olid aluseks antud uurimuse läbiviimisel.

Ning suured tänud lähedastele nende lõppematu toetuse ja ärakuulamise eest.

Kasutatud kirjandus

- Adams, J.R., Leonard, J.A., Waits, L.P. (2003). Widespread occurrence of a domestic dog mitochondrial DNA haplotype in southeastern US coyotes. *Molecular Ecology*, 12, 541-546.
- Allendorf, F.W., Leary, R.F., Spruell, P., Wenburg, J.K. (2001). The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *TRENDS in Ecology & Evolution*, 16, 613-622.
- Anderson, E.C. & Thompson, E.A. (2002). A Model-Based Method for Identifying Species Hybrids Using Multilocus Genetic Data. *Genetics*, 160, 1217-1229.
- Anderson, T.M., vonHoldt, B.M., Candille, S.I., Musiani, M., Greco, C., Stahler, D.R., Smith, D.W., Padhukasahasram, B., Randi, E., Leonard, J.A., Bustamante, C.D., Ostrander, E.A., Tang, H., Wayne, R.K. and Barsh, G.S. (2009). Molecular and evolutionary history of melanism in North American gray wolves. *Science*, 323, 1339-1343.
- Andersone, Ž. & Ozoliņš, J. (2000). Craniometrical characteristics and dental anomalies in wolves *Canis lupus* from Latvia. *Acta Theriologica*, 45, 549-558.
- Andersone, Ž., Lucchini, V., Randi, E. and Ozoliņš, J. (2002). Hybridization between wolves and dogs in Latvia as documented using mitochondrial and microsatellite DNA markers. *Mammalian Biology*, 67, 79-90.
- Arnold, M.L. (1997). Natural Hybridization and Evolution. *Oxford University Press, Oxford, New York*, 3-20.
- Aspi, J., Roininen, E., Ruokonen, M., Kojola, I. and Vilà, C. (2006). Genetic diversity, population structure, effective population size and demographic history of the Finnish wolf population. *Molecular Ecology*, 15, 1561-1576.
- Balčiauskas, L. (2008). Wolf Numbers and Distribution in Lithuania and Problems of Species Conservation. *Annales Zoologici Fennici*, 45, 329-334.

- Baltrūnaite, L., Balčiauskas, L., Åkesson, M. (2013). The genetic structure of the Lithuanian wolf population. *Central European Journal of Biology*, 8, 440-447.
- Blanco, J.C., Reig, S., de la Cuesta, L. (1992). Distribution, status and conservation problems of the wolf *Canis lupus* in Spain. *Biological Conservation*, 60, 73-80.
- Boitani, L. (2000). Action plan for the conservation of wolves (*Canis lupus*) in Europe. *Nature and Environment Series*, 113, 13-24.
- Boitani, L. (2003). Wolf Social Ecology. In: Mech, L.D., Boitani, L., eds. *Wolves: Behaviour, Ecology and Conservation*. University of Chicago Press, Chicago, pp. 317-340.
- Chapron, G., Kaczensky, P., Linnell, J.D.C., von Arx, M., Huber, D., Andrén, H., López-Bao, J.V., Adamec, M., Álvares, F., Anders, O., Balčiauskas, L., Balys, V., Bedő, P., Bego, F., Blanco, J.C., Breitenmoser, U., Brøseth, H., Bufka, L., Bunikyte, R., Ciucci, P., Dutsov, A., Engleder, T., Fuxjäger, C., Groff, C., Holmala, K., Hoxha, B., Iliopoulus, Y., Ionescu, O., Jeremić, J., Jerina, K., Kluth, G., Knauer, F., Kojola, I., Kos, I., Krofel, M., Kubala, J., Kunovac, S., Kusak, J., Kutal, M., Liberg, O., Maijć, A., Männil, P., Manz, R., Marboutin, E., Marucco, F., Melovski, D., Mersini, K., Metrzanis, Y., Myslajek, R.W., Nowak, S., Odden, J., Ozolins, J., Palomero, G., Paunović, M., Persson, J., Potočník, H., Quenette, P.-Y., Rauer, G., Reinhardt, I., Rigg, R., Ryser, A., Salvatori, V., Skrbinišek, T., Stojanov, A., Swenson, J.E., Szemethy, L., Trajçe, A., Tsingarska-Sedefcheva, E., Váňa, M., Veeroja, R., Wabakken, P., Wölfl, M., Wölfl, S., Zimmerman, F., Zlatanova, D., Boitani, L. (2014). Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes. *Science*, 346, 1-53.
- Ciucci, P., Lucchini, V., Boitani, L., Randi, E. (2003). Declaws in wolves as evidence of admixed ancestry with dogs. *Canadian Journal of Zoology*, 81, 2077-2081.
- Ciucci, P., Reggioni, W., Maiorano, L. and Boitani, L. (2009). Long-Distance Dispersal of a Rescued Wolf From the Northern Apennines to the Western Alps. *The Journal of Wildlife Management*, 73, 1300-1306.

- Clutton-Brock, J. (1995). Origins of the dog: domestication and early history. In Serpell, J., ed. *The domestic dog, its evolution, behaviour and interactions with people*. Cambridge University Press, UK, pp. 7-20.
- De Groot, G.A., Nowak, C., Skrbinšek, T., Andersen, L.W., Aspi, J., Fumagalli, L., Godinho, R., Harms, V., Jansman, H.A.H., Liberg, O., Marucco, F., Mysławek, R.W., Nowak, S., Pilot, M., Randi, E., Reinhardt, I., Śmietana, W., Szewczyk, M., Taberlet, P., Vilà, C., Muñoz-Fuentes, V. (2016). Decades of population genetic research reveal the need for harmonization of molecular markers: the grey wolf *Canis lupus* as case study. *Mammal Review*, 12502, 1-17.
- Delibes, M. (1990). Status and conservation needs of the wolf in the Council of Europe member states. *Nature and Environment Series*, 47, 7-14.
- Dragoo, J.W. & Honeycutt, R.L. (1997). Systematics of mustelid-like carnivores. *Journal of Mammology*, 78, 426-443.
- Flynn, J.J. & Galiano, H. (1982). Phylogeny of Early Tertiary Carnivora, With a Description of a New Species of *Protictis* From the Middle Eocene of Northwestern Wyoming. *American Museum Novitates*, 2725, 1-64.
- Germonpré, M., Sablin, M.V., Stevens, R.E., Hedges, R.E.M, Hofreiter, M., Stiller, M., Després, V.R. (2009). Fossil dogs and wolves from Palaeolithic sites in Belgium, the Ukraine and Russia: osteometry, ancient DNA and stable isotopes. *Journal of Archaeological Science*, 36, 473-490.
- Godinho, R., Llaneza, L., Blanco, J.C., Lopes, S., Álvares, F., García, E.J., Palacios, V., Cortés, Y., Talegón, J., Ferrand, N. (2011). Genetic evidence for multiple events of hybridization between wolves and domestic dogs in the Iberian Peninsula. *Molecular Ecology*, 20, 5154-5166.
- Hedrick, P.W. (2013). Adaptive introgression in animals: examples and comparison to new mutation and standing variation as sources of adaptive variation. *Molecular Ecology*, 22, 4606-4618.

- Hindrikson, M., Männil, P., Ozolinš, J., Krzywinski, A., Saarma, U. (2012). Bucking the trend in wolf-dog hybridization: first evidence from Europe of hybridization between female dogs and male wolves. *PLoS One*, 7, e46465.
- Hindrikson, M., Remm, J., Männil, P., Ozolins, J., Tammeleht, E., Saarma, U. (2013). Spatial Genetic Analyses Reveal Cryptic Population Structure and Migration Patterns in a Continuously Harvested Grey Wolf (*Canis lupus*) Population in North-Eastern Europe. *PLoS ONE*, 8, e75765.
- Hindrikson, M., Remm, J., Pilot, M., Godinho, R., Stronen, A.V., Baltrūnaitė, L., Czarnomska, S.D., Leonard, J.A., Randi, E., Nowak, C., Åkesson, M., López-Bao, J.V., Álvares, F., Llaneza, L., Echegaray, J., Vilà, C., Ozolins, J., Rungis, D., Aspi, J., Paule, L., Skrbinšek, T. and Saarma, U. (2017). Wolf population genetics in Europe: a systematic review, meta-analysis and suggestions for conservation and management. *Biological Reviews*, 92, 1601-1629.
- Huck, M., Jedrzejewski, W., Borowik, T., Milosz-Cielma, M., Schmidt, K., Jedrzejewska, B., Nowak, S. and Myslajek, R.W. (2010). Habitat suitability, corridors and dispersal barriers for large carnivores in Poland. *Acta Theriologica*, 55, 177-192.
- Huck, M., Jedrzejewski, W., Borowick, T., Jedrzejewska, B., Nowak, S., Myslajek, R.W. (2011). Analyses of least cost paths for determining effects of habitat types on landscape permeability: wolves in Poland. *Acta Theriologica*, 56, 91-101.
- Jansson, E., Ruokonen, M., Kojola, I., Aspi, J. (2012). Rise and fall of a wolf population: genetic diversity and structure during recovery, rapid expansion and drastic decline. *Molecular Ecology*, 21, 5178-5193.
- Jedrzejewski, W., Niedzialkowska, M., Nowak, S., Jedrzejewska, B. (2004). Habitat variables associated with wolf (*Canis lupus*) distribution and abundance in northern Poland. *Diversity and Distributions*, 10, 225-233.
- Jedrzejewski, W., Niedzialkowska, M., Myslajek, R.W., Nowak, S., Jedrzejewska, B. (2005). Habitat selection by wolves *Canis lupus* in the uplands and mountains of southern Poland. *Acta Theriologica*, 50, 417-428.

- Kaczensky, P., Chapron, G., von Arx, M., Huber, D., Andén, H., Linnell, J. (2012). Status, management and distribution of large carnivores - bear, lynx, wolf & wolverine - in Europe. *European Commission*.
- Keskkonnaministeerium. (2012). Suurkiskjate (hunt *Canis lupus*, ilves *Lynx lynx*, pruunkaru *Ursus arctos*) kaitse- ja ohjamise tegevuskava aastateks 2012-2021.
- Kojola, I., Aspi, J., Hakala, A., Heikkinen, S., Ilmoni, C. and Ronkainen, S. (2006). Dispersal in an expanding wolf population in Finland. *Journal of Mammology*, 87, 281-286.
- Kojola, I., Kaartinen, S., Hakala, A., Heikkinen, S. and Voipio, H.-M. (2009). Dispersal Behavior and the Connectivity Between Wolf Populations in Northern Europe. *The Journal of Wildlife Management*, 73, 309-313.
- Kutser, K. (2017). Huntide (*Canis lupus*) ja koerte (*Canis familiaris*) hübriidiseerumine ja introgressioon Eestis. Tartu Ülikool, Tartu, Eesti. Magistritöö.
- Leonard, J.A., Wayne, R.K., Wheeler, J., Valadez, R., Guillén, S., and Vilà, C. (2002). Ancient DNA evidence for Old World origin of New World dogs. *Science*, 298, 1613-1616.
- Leonard, J.A., Echegaray, J., Randi, E. and Vilà, C. (2014). Impact of hybridization on the conservation of wild canids. In: Gompper, M. E., ed. *Free ranging dogs and wildlife conservation*. Oxford University Press, UK, pp. 170-184.
- Lescureux, N. & Linnell, J. (2014). Warring brothers: The complex interactions between wolves (*Canis lupus*) and dogs (*Canis familiaris*) in a conservation context. *Biological Conservation*, 171, 232-245.
- Mallet, J. (2005). Hybridization as an invasion of the genome. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 20, 229-237.
- Mech, L.D. (1974). *Canis lupus*. *Mammalian Species*, 37, 1-6.
- Morin, P.A., Manaster, C., Mesnick, S.L., Holland, R. (2009). Normalization and binning of historical and multi-source microsatellite data: overcoming the problems of

allele size shift with ALLELOGRAM. *Molecular Ecology Resources*, 9, 1451-1455.

Muñoz-Fuentes, V., Darimont, C.T., Paquet, P.C., Leonard, J.A. (2010). The genetic legacy of extirpation and re-colonizing in Vancouver Island wolves. *Conservation Genetics*, 11, 547-556.

Nowak, S., Mysłajek, R.W., Jedrzejewska, B. (2008). Density and demography of wolf, *Canis lupus* population in the western-most part of the Polish Carpathian Mountains, 1996-2003. *Folia Zoologica*, 57, 392-402.

Park, S.D.E. (2001). The Excel Microsatellite Toolkit. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetics Effects of Selection. University of Dublin, Dublin, Ireland: Ph.D. Thesis.

Plumer, L., Keis, M., Remm, J., Hindrikson, M., Jõgisalu, I., Männil, P., Kübarsepp, M., Saarma, U. (2016). Wolves Recolonizing Islands: Genetic Consequences and Implications for Conservation and Management. *PLoS ONE*, 11, e015911.

Plumer, L., Talvi, T., Männil, P., Saarma, U. (2018). Assessing the roles of wolves and dogs in livestock predation with suggestions for mitigating human-wildlife conflict and conservation of wolves. *Conservation Genetics*, <https://doi.org/10.1007/s10592-017-1045-4>

Popiolek, M., Szczesna, J., Nowak, S., Mysłajek, R.W. (2007). Helminth infections in faecal samples of wolves *Canis lupus* L. from the western Beskidy Mountains in southern Poland. *Journal of Helminthology*, 81, 339-344.

Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155, 945-959.

Randi, E. (1993). Effects of fragmentation and isolation on genetic variability of the Italian populations of wolf *Canis lupus* and brown bear *Ursus arctos*. *Acta Theriologica*, 38, 113-120.

Randi, E., Lucchini, V., Christensen, M.F., Mucci, N., Funk, S.M., Dolf, G. and Loeschke, V. (2000). Mitochondrial DNA variability in Italian and east European wolves:

- detecting the consequences of small population size and hybridization. *Conservation Biology*, 14, 464-473.
- Randi, E. (2008). Detecting hybridization between wild species and their domesticated relatives. *Molecular Ecology*, 17, 285-293.
- Randi, E. (2011). Genetics and conservation of wolves *Canis lupus* in Europe. *Mammal Review*, 41, 99-111.
- Rhymer, J.M. & Simberloff, D. (1996). Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 27, 83-109.
- Seddon, J.M., Sundqvist, A.-K., Björnerfeldt, S. and Ellegren, H. (2006). Genetic identification of immigrants to the Scandinavian wolf population. *Conservation Genetics*, 7, 225-230.
- Sergio, F., Caro, T., Brown, D., Clucas, B., Hunter, J., Ketchum, J., McHugh, K., Hiraldo, F. (2008). Top predators as conservation tools: ecological rationale, assumptions, and efficacy. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 39, 1-19.
- Smith, D., Meier, T., Geffen, E.H., Mech, L.D., Burch, J.W., Adams, L.G. and Wayne, R.K. (1997). Is incest common in gray wolf packs? *Behavioral Ecology*, 8, 384-391.
- Stronen, A.V., Jedrzejewska, B., Pertoldi, C., Demontis, D., Randi, E., Niedzialkowska, M., Pilot, M., Sidorovich, V.E., Dykyy, I., Kusak, J., Tsingarska, E., Kojola, I., Karamanlidis, A.A., Ornicans, A., Lobkov, V.A., Dumenko, V., Czarnomska, S.D. (2013). North-South Differentiation and a Region of High Diversity in European Wolves (*Canis lupus*). *PLoS ONE*, 8, e76454.
- Thalmann, O., Shapiro, B., Cui, P., Schuenemann, V.J., Sawyer, S.K., Greenfield, D.L., Germonpré, M.B., Sablin, M.V., López-Giráldez, F., Domingo-Roura, X., Napierala, H., Uerpmann, H.-P., Loponte, D.M., Acosta, A.A., Giemsch, L., Schmitz, R.W., Worthington, B., Buikstra, J.E., Druzhkova, A., Graphodatsky, A.S., Ovodov, N.D., Wahlberg, N., Freedman, A.H., Schweizer, R.M., Koepfli,

- K.-P., Leonard, J.A., Meyer, M., Krause, J., Pääbo, S., Green, R.E. and Wayne, R.K. (2013). Complete mitochondrial genomes of ancient Canids suggest a European origin of domestic dogs. *Science*, 342, 871-874.
- Todesco, M., Pascual, M.A., Owens, G.L., Ostevik, K.L., Moyers, B.T., Hübner, S., Heredia, S.M., Hahn, M.A., Caseys, C., Bock, D.G., Rieseberg, L.H. (2016). Hybridization and extinction. *Evolutionary Applications*, 9, 892-908.
- Torres, R.T., Ferreira, E., Rocha, R.G., Fonseca, C. (2017). Hybridization between wolf and domestic dog: First evidence from an endangered population in central Portugal. *Mammalian Biology*, 86, 70-74.
- Verardi, A., Lucchini, V., Randi, E. (2006). Detecting introgressive hybridization between free-ranging domestic dogs and wild wolves (*Canis lupus*) by admixture linkage disequilibrium analysis. *Molecular Ecology*, 15, 2845-2855.
- Vilà, C., Savolainen, P., Maldonado, J.E., Amorim, I.R., Rice, J.E., Honeycutt, R.L., Crandall, K.A., Lundeberg, J. and Wayne, R.K. (1997). Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science*, 276, 1687-1689.
- Vilà, C., Amorim, I.R., Leonard, J.A., Posada, D., Castroviejo, J., Petrucci-Fonseca, F., Crandall, K.A., Ellegren, H. and Wayne, R.K. (1999a). Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*. *Molecular Ecology*, 8, 2089-2103.
- Vilà, C., Maldonado, J.E., Wayne, R.K. (1999b). Phylogenetic Relationships, Evolution, and Genetic Diversity of the Domestic Dog. *The American Genetic Association*, 90, 71-77.
- Vilà, C. & Wayne, R.K. (1999c). Hybridization between wolves and dogs. *Conservation Biology*, 13, 195-198.
- Vilà, C., Walker, C., Sundqvist, A.-K., Flagstad, Ø., Andersone, Ž., Casulli, A., Kojola, I., Valdmann, H., Halverson, J. and Ellegren, H. (2003). Combined use of maternal, paternal and bi-parental genetic markers for the identification of wolf-dog hybrids. *Heredity*, 90, 17-24.

- Wayne, R.K. (1986). Cranial morphology of domestic and wild canids: the influence of development on morphological change. *Evolution*, 40, 243-261.
- Wayne, R.K., Geffen, E., Girman, D.J., Koepfli, K.P., Lau, L.M., Marshall, C.R. (1997). Molecular systematics of the Canidae. *Systematic Biology*, 46, 622-653.
- Wayne, R.K., Leonard, J.A. & Vilà, C. (2006). Genetic analysis of dog domestication. In: Zeder, M.A., Bradley, D.G., Emshwiler, E. and Smith, B.D., eds. *Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms*. University of California Press, Los Angeles, pp. 279-293.

Lisad

Lisa 1. Riigid, kus tehti kindlaks hübriidide esinemine, hübriidide ID, küttemiskoha koordinaadid, isendite sugu ning küttemise aasta.

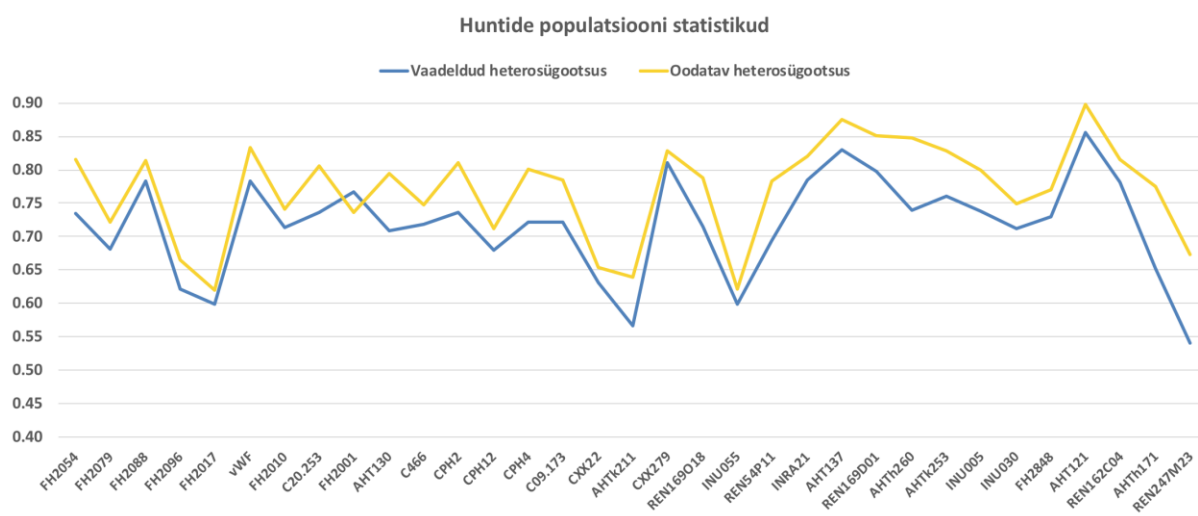
Riik	Isendi ID	Koordinaadid		Sugu	Aasta
Soome	SO12131	67.294078	28.165922	M	
Soome	SO12705	60.470932	22.520431	M	
Karjala	KA14	62.623302	33.683824	M	2012
Karjala	KA17	61.607819	34.632630	F	2012
Karjala	KA19	62.991264	34.431222	F	2013
Karjala	KA58	62.666908	30.950012	M	
Karjala	KA91	61.190000	29.282220	F	2017
Karjala	KA98	61.588680	31.489483	M	2012
Läti	LAT906	56.47121	27.63679	M	2015
Läti	LAT907	57.15822	27.03323	M	2014
Läti	LAT908	57.15822	27.03323	M	2014
Läti	LAT909	57.15845	27.03386	F	2013
Läti	LAT912	57.17329	27.09022	M	2014
Leedu	LE872	54.633333	24.933333	M	
Leedu	LE934	55.082494	22.771397	M	2014
Leedu	LE946	55.534444	25.107222	M	2013
Poola	PO5	52.639803	23.712089	F	1997
Poola	PO704	51.078452	19.999085	F	
Poola	PO846	53.35	20.40	F	
Poola	PO1046	54.04921	22.807875	F	2005
Poola	PO1431	53.34864	22.674882	F	2012
Poola	PO1432	53.960908	23.228447	F	2012
Poola	POLS02	51.52061	20.11497	F	2016
Venemaa	VE161	56.80	30.00	F	2000
Venemaa	VE174	57.27	31.18	F	2000
Venemaa	VE213	51.00	52.67	F	2001

Lisa 2. Huntide ja koerte populatsioonide statistikud - vaadeldud heterosügootsus (Ho), oodatav heterosügootsus (He) ja alleelide arv lookuses (Na).

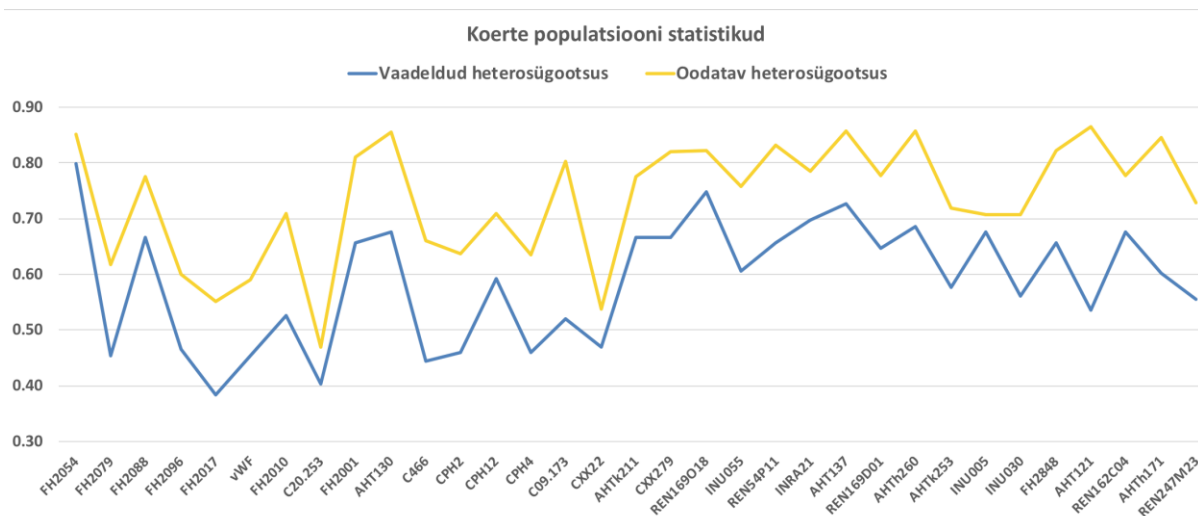
Hundid				Koerad			
Lookus	Ho	He	Na	Lookus	Ho	He	Na
FH2054	0,74	0,82	12	FH2054	0,80	0,85	11
FH2079	0,68	0,72	10	FH2079	0,45	0,62	7
FH2088	0,78	0,81	9	FH2088	0,67	0,78	7
FH2096	0,62	0,66	7	FH2096	0,46	0,60	4
FH2017	0,60	0,62	6	FH2017	0,38	0,55	6
vWF	0,78	0,83	10	vWF	0,45	0,59	7
FH2010	0,71	0,74	6	FH2010	0,53	0,71	6
C20.253	0,74	0,81	11	C20.253	0,40	0,47	6
FH2001	0,77	0,74	9	FH2001	0,66	0,81	11
AHT130	0,71	0,79	11	AHT130	0,68	0,85	10
C466	0,72	0,75	10	C466	0,44	0,66	8
CPH2	0,74	0,81	9	CPH2	0,46	0,64	6
CPH12	0,68	0,71	10	CPH12	0,59	0,71	7
CPH4	0,72	0,80	9	CPH4	0,46	0,64	7
C09.173	0,72	0,78	10	C09.173	0,52	0,80	8
CXX22	0,63	0,65	7	CXX22	0,47	0,54	6
AHTk211	0,57	0,64	8	AHTk211	0,67	0,78	7
CXX279	0,81	0,83	10	CXX279	0,67	0,82	10
REN169O18	0,72	0,79	10	REN169O18	0,75	0,82	8
INU055	0,60	0,62	7	INU055	0,61	0,76	9
REN54P11	0,69	0,78	12	REN54P11	0,66	0,83	11
INRA21	0,78	0,82	7	INRA21	0,70	0,79	7
AHT137	0,83	0,88	15	AHT137	0,73	0,86	12
REN169D01	0,80	0,85	12	REN169D01	0,65	0,78	11
AHTTh260	0,74	0,85	14	AHTTh260	0,69	0,86	11
AHTk253	0,76	0,83	11	AHTk253	0,58	0,72	7
INU005	0,74	0,80	10	INU005	0,68	0,71	10
INU030	0,71	0,75	11	INU030	0,56	0,71	7
FH2848	0,73	0,77	11	FH2848	0,66	0,82	8
AHT121	0,86	0,90	20	AHT121	0,54	0,86	13
REN162C04	0,78	0,81	13	REN162C04	0,68	0,78	7
AHTTh171	0,65	0,77	12	AHTTh171	0,60	0,85	11
REN247M23	0,54	0,67	7	REN247M23	0,56	0,73	8
Keskmine	0,72	0,77	10,18	Keskmine	0,59	0,74	8,3

Lisa 3. Huntide ja koerte populatsiooni statistikud graafiliselt.

a) Huntide populatsiooni statistikud



b) Koerte populatsiooni statistikud



Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Rita Baumer,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose "Huntide (*Canis lupus*) ja koerte (*Canis familiaris*) hübriidiseerumine Euroopa põhjaosas", mille juhendajad on Kaari Susi ja Urmas Saarma,
 - 1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu alates **31.08.2020** kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus **24.05.2018**

